UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1934-1935 N° 73

Contribution à l'Etude DE LA SÉROFLOCULATION DE HENRY

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement en Juillet 1935

PAR

A. LOURTAU

Pharmacien

Diplômé d'Hydrologie et de Médecine légale

MEMBRES DU JURY

MM.	MAURIN	*Président.*
	ROQUES	
	NANTA	*Assesseurs.*
	BRUSTIER	
	DELAS	*Suppléant.*

TOULOUSE
IMPRIMERIE BERTHOUMIEU
39, RUE RIQUET, 39

1935

Contribution à l'Etude
DE LA SÉROFLOCULATION DE HENRY

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1934-1935 N° 73

Contribution à l'Etude DE LA SÉROFLOCULATION DE HENRY

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement en Juillet 1935

PAR

A. LOURTAU

Pharmacien

Diplômé d'Hydrologie et de Médecine légale

MEMBRES DU JURY

MM. MAURIN — *Président.*

ROQUES, NANTA, BRUSTIER — *Assesseurs.*

DELAS — *Suppléant.*

TOULOUSE
IMPRIMERIE BERTHOUMIEU
39, RUE RIQUET, 39

1935

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN	MM.	BARDIER.
ASSESSEUR		DAMBRIN.
DOYEN HONORAIRE		ABELOUS.
PROFESSEURS HONORAIRES		MOSSE.
		SAINT-ANGE.
		BRÆMER.
		BEZY.
		MARIE.
		MOREL.
		TAPIE.
		AUDEBERT.

PROFESSEURS

Anatomie	MM.	VALLOIS.
Histologie et Embryologie		ARGAUD.
Anatomie pathologique		TAPIE (J.).
Pathologie générale et expérimentale		BARDIER.
Bactériologie		RISPAL.
Pathologie interne		SERR.
Thérapeutique	Mlle	CONDAT.
Hygiène et Médecine préventive	MM.	LAFFORGUE.
Médecine légale		SOREL (E.).
Clinique médicale		DALOUS.
		LAPORTE.
Clinique chirurgicale et gynécologie		MERIEL.
Clinique chirurgicale		DAMBRIN.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		CAUBET.
Clinique médicale infantile et puériculture		BAYLAC.
Clinique de neurologie et psychiatrie		RISER.
Clinique ophtalmologique		GORSE.
Physique biologique et médicale		ESCANDE.
Chimie et Toxicologie		MOOG.
Pharmacie		RIBAUT.
Hydrologie		ROQUES.
Clinique des voies urinaires		N.
Oto-rhino-laryngologie		ESCAT.
Botanique et Matière médicale		MAURIN.
Clinique obstétricale		GARIPUY.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie topographique	MM.	DIEULAFE.
Physiologie		SOULA.
Chimie		VALDIGUIE.
Chirurgie		DUCUING.
		MIGINIAC.
Anatomie		CLERMONT.
Histoire naturelle pharmaceutique		MARTIN-SANS.

COURS COMPLÉMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes	MM.	GARIPUY.
Obstétrique		ESTIENNY.
Chimie pathologique		VALDIGUIE.
Pharmacologie		SOULA.
Chimie minérale		VALDIGUIE.
Cryptogamie		MARTIN-SANS.
Zoologie		VALLOIS.
Stomatologie		CADENAT.
Physique Pharmaceutique		BUGNARD.
Chimie organique		BRUSTIER.
Dermatologie et Syphiligraphie		CHATELLIER.
Législation pharmaceutique		MAURIN.
Botanique		MARTIN-SANS.
Praasitologie		DELAS.
Microbiologie		BOUISSET.
Physiologie		NANTA.
Clinique des Maladies cutanées et syphilitiques		

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Histologie	MM.	CALVET.
		SENDRAIL.
Médecine		SOREL (Raymond).
		MOREL.
Chirurgie		LEFEBVRE.
Pharmacie		BOULARAN.
Chimie générale pharmaceutique et toxicologique		FLORENCE.
Physique médicale		BRUSTIER.
Secrétaire de la Faculté		BUGNARD.
		RENARD.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (Délibération en date du 12 mai 1891)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

En faible témoignage de mon attachement et de ma reconnaissance.

A MA FEMME

En gage de ma tendresse.

A MES BEAUX-PARENTS

En témoignage d'affection.

A MES ONCLES ET A MES TANTES

En affectueux hommage.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAURIN

Professeur de Matière Médicale
et de Législation Pharmaceutique.

Qui a été le guide précieux, le conseiller amical dans nos études pharmaceutiques et médicales. Il nous a témoigné une constante bienveillance et nous en donne une nouvelle preuve en nous faisant l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'assurance respectueuse de notre vive gratitude.

A MON JURY DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ROQUES

Professeur d'Hydrologie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Qui nous a inspiré cette étude, nous a aidé de ses conseils autorisés et a facilité nos travaux. Nous lui exprimons nos sentiments respectueux et bien reconnaissants.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ NANTA

Professeur de Clinique de Dermosyphiligraphie.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ BRUSTIER

Chargé de cours de Chimie Organique,
Chevalier de la Légion d'honneur.

MONSIEUR LE DOCTEUR DELAS

Chargé de cours de Parasitologie.

MONSIEUR LE PROFESSEUR BARDIER

Doyen de la Faculté de Médecine,
Professeur de Pathologie générale et expérimentale,
Membre correspondant de l'Académie de Médecine,
Officier de la Légion d'honneur.

Respectueux hommage de vive gratitude.

MONSIEUR LE DOCTEUR CHATELLIER

Chargé du cours de Dermatologie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Sentiments reconnaissants.

MONSIEUR LE DOCTEUR DE BOISSEZON

Docteur ès sciences,
Officier de la Légion d'honneur.

Avec mes sincères remerciements pour le concours qu'il nous a apporté.

A MES MAITRES
DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MES AMIS

HISTORIQUE

La pathogénie du paludisme, longtemps mystérieuse, s'est éclairée vers la fin du siècle dernier, par la recherche des causes qui favorisent le développement du parasite de cette affection.

La découverte par Laveran, en 1880, de ce parasite (hématozoaire du paludisme), a été d'une importance capitale pour l'étude de cette maladie. Mais, plus tard, on s'est rendu compte que si la mise en évidence de l'hématozoaire est généralement facile au cours de la période aiguë et fébrile de la maladie, elle devient peu aisée chez les paludéens apyrétiques et dans les cas chroniques.

En effet, on constate assez rapidement que le parasite abandonne la circulation périphérique pour aller se localiser dans les organes profonds; c'est pourquoi de nombreux auteurs ont, depuis quelque temps déjà, étudié les propriétés particulières des sérums paludéens dans l'espoir d'y découvrir la substance d'une nouvelle méthode de diagnostic.

Sans entrer dans les détails, il nous paraît utile de

citer les différentes réactions sérologiques pratiquées en vue de la découverte d'un sérodiagnostic du paludisme.

Celli, en 1889, a recherché, par l'action directe, si le sérum des paludéens avait des propriétés agglutinantes vis-à-vis des parasites. Ses résultats furent négatifs.

En 1900, Stephens et Christophers obtinrent, par la même méthode, des résultats positifs.

Abrami et Sennevet d'une part, Carnot, d'autre part, constatèrent, en 1917, des résultats opposés en étudiant les propriétés lytiques du sérum de paludéens.

Plusieurs expérimentateurs essayèrent d'appliquer à l'infection palustre la méthode de déviation du complément de Bordet et Gengou. D'autres, parmi lesquels de Blasi (1907), Gasbarrini (1913), Gordon Thomson (1918), Horowitz et Wlassowa (1924), Kingsburry (1927), Savtchenko et Boronoff (1927) et Picard (1929), employèrent des antigènes différents et, malgré de nombreux travaux, les conclusions furent loin d'être concordantes.

En 1926, Taliaferro (W. H.) et ses collaborateurs ont mis au point des réactions de précipitation du sérum palustre; ils se sont servis d'antigènes variés, tels que des extraits de placenta d'accouchée paludéenne, des extraits de rate infectée, des cultures concentrées de divers plasmodiums. Mais la complexité des méthodes employées et les résultats peu encourageants obtenus n'ont pas été de nature à imposer ces procédés.

Nous arrivons ainsi en 1927, année où Henry (A.-F.-X.), au Congrès pour l'avancement des sciences à Constantine, préconisa, sous le nom de *malaria floculation*, un nouveau procédé de diagnostic sérologique de l'infestation palustre.

La valeur de cette réaction fut accueillie au début, avec le scepticisme que semblaient justifier les nombreux insuccès et les résultats peu probants que nous avons cités; néanmoins, les recherches entreprises, dès lors et de différents côtés, ont corroboré les résultats de Henry.

Le principe sur lequel l'auteur s'est appuyé, est le suivant : Tout antigène d'origine extérieure (exoantigène) provoque la formation d'anticorps dans l'organisme où il pénètre. Mais l'antigène peut être produit dans l'organisme lui-même et provoque également l'apparition d'anticorps spéciaux, dénommés antiendogènes. Dans le paludisme, ces endogènes ne seraient autres que le pigment ocre renfermant beaucoup de fer et le pigment mélanique. La réaction recherchée est la floculation résultant de la mise en présence du sérum paludéen, soit avec certaines solutions ferriques, soit avec une suspension de mélanine.

HYPOTHÈSE DE HENRY

A.-F.-X. Henry avait travaillé plus de cinq ans sur des extraits hépatiques et spléniques provenant de malades morts de paludisme, ainsi que sur du sang de malades fortement parasités. Dans ces expérimentations, le nombre de résultats erronés était trop élevé pour imposer cette méthode de déviation du complément. En raison de l'importance du problème, Henry aiguilla ses recherches dans de nouvelles voies et arriva à la séroflocculation dans le paludisme après avoir longtemps réfléchi sur la séroréaction de la syphilis. Il partit de l'hypothèse que les organes détruits par le spirochète abandonnent au sang des lipoïdes et d'autres substances qui agissent à titre d'antigènes ou, du moins, comme corps étrangers, déterminant les modifications sanguines sur lesquelles repose la séroréaction de la syphilis.

Ces corps, ou substances, produits dans un organe ont été désignés sous le nom d'endogènes, contraction du terme endoantigènes, par A.-F.-X. Henry qui s'est demandé s'il n'y aurait pas des endogènes spécifiques

dans le paludisme. Or, Kelsch et Kiener, anciens médecins militaires à Constantine, avaient écrit dans leur *Manuel des Maladies Tropicales* que toutes les lésions histopathologiques du paludisme se caractérisaient par l'accumulation de deux pigments au niveau des organes : un pigment ocre qui renferme du fer et la mélanine, dont la composition n'était pas encore connue.

De cette constatation, Henry en a inféré que ces pigments constituaient, non seulement un dépôt morbide, mais qu'ils assumaient un rôle spécial dans l'évolution du paludisme; ce sont, en effet, les endogènes malariques.

Ces antigènes d'origine interne peuvent, tout comme les exoantigènes, donner lieu à la formation d'anticorps ou d'antiendogènes. Or, les pigments palustres, pigment ocre et pigment mélanique sont assimilables à des endogènes; par suite, ils déterminent dans le sérum des sujets infectés l'apparition de propriétés spécifiques et, en particulier, d'un pouvoir floculant. En pratique, cette floculation ne peut guère être recherchée vis-à-vis des pigments palustres eux-mêmes, car il serait malaisé de les obtenir d'une manière courante. Aussi, Henry a-t-il été amené à leur substituer des pigments homologues, de composition rapprochée : l'albuminate de fer ou le méthylarsinate de fer pour remplacer le pigment ocre ferrugineux et la mélanine, extraite de la choroïde de l'œil de bœuf, pour jouer le rôle du pigment mélanique. La floculation des sérums en présence de ces antigènes définit la réaction de Henry.

BASES DE LA REACTION DE HENRY

Que faut-il entendre par floculation ? C'est la précipitation de colloïdes sous forme de flocons ou floculats, d'abord microscopiques, puis visibles à l'œil nu. Cette précipitation a de nombreuses causes : physiques, chimiques et aussi biologiques; elles reflètent la réaction entre un antigène et un anticorps.

La floculation est une réaction spécifique. Les éléments qui provoqueraient dans l'organisme paludéen, l'apparition d'anticorps (antiendogènes) ne peuvent être que les deux pigments suivants :

1. L'hémosidérine, ou pigment ocre, due à l'action d'une hémolysine sur le globule rouge; elle contient du fer inorganique et elle n'est pas spéciale au paludisme;

2. L'hémozoïne, ou pigment noir, d'origine plasmodiale, spécifique, caractéristique du paludisme; c'est le pigment malarique qui est élaboré aux dépens de l'hémoglobine par l'hématozoaire, pendant son développement dans le globule rouge. Mais, dans son élaboration, le parasite apporte une partie de sa substance propre; en effet, Varasi a prouvé que la quantité de pigments fournie par un même poids d'hémoglobine variait avec l'espèce du parasite et qu'elle dépassait ce que l'hémoglobine pouvait fournir à elle seule.

Ce pigment est transporté par les phagocytes dans la rate et le foie. Il est soluble dans les alcalis étendus et alcooliques, les acides alcooliques, le sulfure d'ammonium et un peu dans le plasma du sang. Il est insoluble dans l'eau, l'alcool, le chloroforme, l'éther, les acides minéraux. Il renferme du fer que l'on ne peut toutefois mettre en évidence qu'après avoir disloqué la molécule pigmentaire.

La formule chimique élémentaire serait :

C 84 H 152 N 20 FeO 28

Il s'apparente aux hématines de digestion; il se distingue nettement des autres pigments d'origine sanguine, ainsi que des mélanines. Ce pigment noir passe dans le sang pendant les accès fébriles; il est repris ensuite par les éléments du système réticulo-endothélial dans différents organes où il se dépose. On le trouve dans les leucocytes mélanifères, la rate, le foie, la moelle osseuse, l'encéphale et, occasionnellement, dans l'endothélium des capillaires de l'organisme.

TECHNIQUE DE LA SÉROFLOCULATION

De ce qui précède, il résulte que la méthode de Henry comporte la mise en œuvre de deux réactions parallèles : une ferrofloculation et une mélanofloculation. La technique de ces réactions a subi depuis 1927 quelques modifications concernant particulièrement le choix et la dilution des réactifs, la formolisation des tubes témoins, le temps de maintien à l'étuve, la lecture de la densité optique.

I. Ferrofloculation.

Henry a étudié deux préparations ferrugineuses susceptibles d'être utilisables : le métharfer Bouty et un albuminate de fer qui n'est délivré que par le Département Scientifique des Laboratoires Merck, de Darmstadt (Allemagne) sous le nom de « Ferrum albuminatum in lamellis, n° 113 ».

Nous nous sommes limité à la ferrofloculation au moyen du métharfer (méthylarsinate de fer) à la

concentration de 2 %. Le taux de la solution de métharfer utilisable pour la réaction doit être égal à 1/450e, taux choisi après plusieurs essais à 1/300e et 1/600e.

Pour la pratique de la réaction, nous conserverons à la glacière les préparations suivantes :

a) Une solution de métharfer en eau distillée à 1/450e, obtenue en additionnant une partie de solution de métharfer à 2 % et 8 parties d'eau distillée;

b) Une solution de métharfer à 1/450e en eau salée à 1 ‰ qui résulte du mélange de une partie de solution de métharfer à 2 %, une partie d'eau salée à 2 ‰, ce qui donne deux parties de solution à 1 ‰ de chlorure de sodium. Le taux 1/450e sera obtenu en diluant cette dernière solution avec sept parties d'eau salée à 1 ‰.

c) Une solution de chlorure de sodium à 1 ‰.

La ferrofloculation se pratique en deux séries de 3 tubes chacune. Une série de réactions se fait en eau distillée dans laquelle les réactions sont plus sensibles et l'autre en eau salée, car certains sérums qui ont trop de globuline floculent spontanément en eau distillée (Klaussner). Dans ces derniers cas, la réaction en eau salée qui stabilise ces sérums, est seule valable. Toutefois, pour certains sérums, on se trouve obligé de saler à 2 ‰ et plus.

La surfloculance est, en général, moins forte le lendemain du prélèvement que le jour même; il est donc préférable de conserver le sérum de 12 à 24 heures avant de pratiquer la réaction.

Dans la technique originelle, on mettait en pré-

sence le sérum frais du malade et des taux différents de métharfer, en eau distillée et en eau salée. Dans chaque série, on disposait un tube témoin composé d'eau distillée — ou d'eau salée — et de sérum du malade. On constituait aussi un témoin commun en ajoutant à 1 cc. de solution de métharfer, salée ou non, 0 cc. 2 d'eau physiologique pour remplacer le sérum. Ce témoin était surtout utile pour la mensuration de la floculation au photomètre.

Voici la dernière technique à laquelle nous nous sommes arrêté d'après les indications de Henry.

A. *Série en eau distillée.*

Tube n° 1 : 1 cc. métharfer à 1/450 en eau distillée + 0 cc. 2 de sérum frais;

Tube n° 2 : 1 cc. d'eau distillée + 0 cc. 2 de sérum frais;

Tube n° 3 : 1 cc. de métharfer à 1/450, en eau distillée + 0 cc. 2 de sérum chauffé à 56° pendant demi-heure, ce qui annule la réaction.

B. *Série en eau salée.*

Tube n° 4 : 1 cc. de métharfer à 1/450, eau salée, à 1 ‰ + 0 cc. 2 de sérum frais;

Tube n° 5 : 1 cc. eau salée à 1 ‰ + 0 cc. 2 de sérum frais;

Tube n° 6 : 1 cc. métharfer à 1/450 en eau salée à 1 ‰ + 0 cc. 2 de sérum chauffé.

Après répartition, on agite les tubes obturés par des bouchons en caoutchouc et l'on porte à l'étuve,

à 37° pendant une heure et demie. Avant de faire la lecture, on laisse les tubes une demi-heure à la température du laboratoire; en somme, on fait la lecture deux heures après la mise en train de la réaction et on interprète les résultats.

Pour les sérums positifs, le précipité est à grains assez voumineux; mais, si 'on avait utilisé l'albuminate de fer, ces grains seraient beaucoup plus fins. Dans les réactions fortes, le précipité est collé au fond du tube; il faut s'en méfier et agiter pour mettre en suspension les grumeaux qui rappellent ceux d'un séro-diagnostic de Widal. Il importe d'écarter, comme non spécifiques, les simples opacifications et les réactions tardives qui donnent un léger trouble floconneux.

La lecture au photomètre se fait exactement comme pour la mélanofloculation que nous allons examiner maintenant.

II. Mélanofloculation.

Henry a étudié diverses variétés de mélanines, à savoir :

a) La mélanine de la seiche, inutilisable pour la réaction;

b) La mélanine provenant de mélanosarcomes de chevaux qui a donné de bons résultats, mais dont le titre des préparations est assez variable;

c) La mélanine d'œil de bœuf qui a donné les meilleurs résultats.

Cette mélanine oculaire n'est pas identique à la mélanine paludéenne; mais toutes les mélanines ont, en commun, un groupement protéinique. La mélanine paludéenne peut être classée parmi les mélanines, non pas parce qu'elle renferme un groupement hémopigmentaire ferrugineux, mais à cause de son groupement protéinique.

C'est vraisemblablement pour ce motif que la mélanine oculaire peut servir comme négatif; c'est elle que nous avons utilisée, d'après les données de Henry.

Nous avons fait deux préparations, avec 6 yeux chaque fois, ce qui nous a donné environ 50 cc. de liquides oculaires et de mélanine, pour 6 yeux. Ces 50 cc. permettent d'obtenir, à peu près, un demi-litre de réactif.

Il nous paraît utile de préciser la manière d'opérer :

Les mains étant parfaitement aseptisées, fendre les yeux qui doivent être prélevés aussitôt après l'abatage, éliminer le cristallin, recueillir l'humeur aqueuse et les autres liquides, râcler la choroïde dans ses parties les plus accessibles, en faisant passer le bistouri dans tous les sens. La masse noirâtre, enlevée par grattage, sera mélangée avec les humeurs recueillies dans un récipient en verre stérilisé; le reste des membranes oculaires est rejeté. On sectionne les plus gros fragments de membrane choroïdienne avec les ciseaux; on triture cette masse dans les humeurs recueillies, en y ajoutant le double de son volume d'eau distillée. Il faut bien malaxer et mélanger le

tout, avec les mains aseptisées, en raison de l'hétérogénéité relative des substances en présence. On obtient ainsi une suspension de mélanine dans le liquide.

Le Bourdellès et Liégeois avaient essayé une technique différente qu'ils ont abandonnée d'ailleurs. Ils chassaient le vitré à l'eau courante et trituraient les fragments de choroïde et l'humeur aqueuse avec du sable fin; ils ne centrifugeaient pas le liquide obtenu; mais ils le laissaient reposer 10 à 12 jours.

Reprenons notre méthode. Dans la suspension de mélanine, on ajoute, goutte à goutte, en agitant le flacon, de l'eau formolée — formol du commerce — dans la proportion de 1/400 afin d'assurer la conservation du mélange; on passe ce mélange sur un filtre en coton de verre, peu serré, et l'on obtient un filtrat noirâtre. Ce filtrat est centrifugé à 4000 tours pendant une minute environ; la durée de la centrifugation est en rapport avec la dimension des tubes de verre. On décante l'émulsion surnageante, on y ajoute 1/400^{e} de formol du commerce, portant ainsi à 1/200^{e} la quantité de formol ajoutée. Cette émulsion de mélanine est portée à la glacière aussitôt préparée; elle constitue l'émulsion originale de mélanine qui, diluée dans certaines conditions, nous servira à préparer les trois formes nécessaires pour exécuter la réaction de Henry.

On ne peut utiliser la solution mélanique récemment préparée, car des modifications de transparence surviennent ultérieurement; il convient d'attendre, au moins un mois, avant l'emploi. Après ce laps de

temps, les altérations qui pourraient se produire ont peu d'importance.

Titrage de la suspension de mélanine.

En règle générale, on obtient la dilution optima nécessaire pour la réaction en ajoutant assez d'eau distillée à l'émulsion originale pour que son opacité corresponde au chiffre 0,25 de l'échelle d'un albuminimètre opacimétrique. Pour obtenir un titrage plus précis, il est utile de se servir d'un photomètre, celui de Vernes, par exemple, avec lequel l'opacité optima à obtenir est de 47 à 50. On obtient le chiffre de l'opacité en mesurant une cuve remplie de mélanine et une cuve remplie d'eau distillée et en déterminant ensuite la différence entre les deux chiffres.

Si l'émulsion originale est trop claire, il faut la diluer bien peu pour effectuer la réaction. Mais, dans ce cas, la petite quantité de formol ajoutée aurait une influence sur les résultats. On peut toujours arriver à établir le titre voulu en centrifugeant une partie de la préparation obtenue ; suivant que l'émulsion originale est trop ou insuffisamment foncée, on dilue avec le liquide surnageant le culot de centrifugation, ou bien on concentre en ajoutant du culot que l'on émulsionne avec soin. On peut aussi corriger la préparation au moyen de suspensions de mélanines, l'une trop concentrée, l'autre trop claire que l'on peut avoir en provision.

Henry obtient le titre voulu en diluant la préparation mère au 1/10^{e} environ, Le Bourdellès l'a réa-

lisé avec une dilution au 1/2e. Quant à nous, nous avions préparé deux émulsions de mélanine; l'opacité propre de 48 au photomètre de Vernes a été obtenu en diluant comme suit :

La première au 1/3 (28 cc. de solution mère pour 80 cc. d'eau);

La deuxième au 1/7 (20 cc. de solution mère pour 140 cc. d'eau).

Nous avons porté deux heures à l'étuve 1 cc. de chaque solution additionnée de 0 cc. 2 de sérum physiologique. Le chiffre d'opacité propre de ce mélange, après le séjour à l'étuve, ne doit pas être supérieur à 38; on déduit du chiffre trouvé au photomètre pour la cuve de la solution de mélanine et d'eau physiologique le chiffre donné par la même cuve pleine d'eau distillée. Un chiffre supérieur à 38 inviterait à essayer une dilution plus étendue; en ce qui concerne nos deux préparations, elles ont donné respectivement une opacité propre de 32 et 36.

Il est recommandable de titrer de nouveau au bout de six mois.

Réactifs nécessaires.

Les réactifs, qui doivent être conservés à la glacière, sont les suivants :

1° L'émulsion de mélanine originale que l'on doit agiter trois fois par semaine; on y a ajouté préalablement 1/200e de formol en vue de sa conservation;

2° L'émulsion de mélanine, en eau distillée,

titrant de 45 à 50 d'opacité au photomètre de Vernes; c'est la mélanine A;

3° Une émulsion de mélanine, en eau distillée, c'est-à-dire la précédente, mais diluée à 1/2; c'est la mélanine B;

4° Une émulsion de mélanine, en eau salée, titrant de 45 à 50 d'opacité au photomètre de Vernes; c'est la mélanine A';

5° Deux solutions d'eau formolée du commerce à 1/200e, une en eau distillée, une en eau salée à 2,70 ‰. L'acidité de ces deux solutions pourrait occasionner de fréquentes précipitations; il faut les alcaliniser en ajoutant 0 cc. 25 de NaoH N/10 pour 100 cc. D'après Trensz, cette alcalinisation correspond à une zone pH favorable à la réaction. Ces deux solutions que l'on doit renouveler tous les quinze jours, seront diluées dans les mêmes conditions que la mélanine et constitueront les témoins.

En ce qui concerne nos préparations, nous les avons diluées au 1/3 pour les réactions avec notre première mélanine et au 1/7e pour les réactions exécutées avec la deuxième.

Pour la préparation des dilutions, nous avons utilisé :

a) De l'eau distillée, non acide;

b) Une solution de Nacl, à 3 ‰;

c) De la lessive de soude décinormale (NaoH N/10) récente, qui sert à alcaliniser les eaux destinées à la dilution, afin de neutraliser l'acidité provenant du formol. A cet effet, nous avons préparé

avec la lessive de soude décinormale, de la lessive de soude au 1/100e par dilution au 1/10e dans un ballon jaugé, nous avons ajouté 0 cc. 25 de lessive de soude au 1/100e pour 100 cc. d'eau distillée et mélangé intimement. De la même façon, nous avons procédé à l'alcalinisation de la solution de chlorure de sodium, à 3 ‰. Maintenant, tous les réactifs sont prêts pour effectuer une série de réactions en eau distillée et une autre série en eau salée.

L'emploi de la première série, — eau distillée — pourrait généralement suffire chez les sujets robustes, atteints de paludisme récent. Dans les phases plus avancées, caractérisées par des lésions viscérales, il y a floculation dans le tube témoin qui contient de l'eau distillée formolée et du sérum, à l'instar de la réaction de Klaussner, relativement à la syphilis. Dans ces cas, il s'agit de supprimer cette surfloculance par l'emploi de la solution chlorurée.

Sérum. — Les sérums doivent être prélevés, de préférence lorsque le malade est à jeun et qu'il n'a pas reçu de quinine depuis au moins vingt-quatre heures. Dans quelques cas, cette dernière condition n'a pas été observée; néanmoins, elle ne nous a pas empêché de trouver la mélanofloculation fortement positive.

Henry recommande de prélever le sérum le lendemain de l'accès. En effet, au moment de l'accès, la réaction pourrait être négative du fait de la saturation de l'antiendogène par l'endogène libéré à la suite de l'éclatement globulaire. De toute façon, on

évitera les sérums trop opalescents, prélevés pendant la digestion, et ceux qui, ayant trop d'hémoglobine, pourraient induire en erreur; cependant les sérums ayant une légère teinte hémoglobine sont utilisables.

La réaction ne doit être pratiquée que de 12 à 48 heures après le prélèvement; après trois jours, des sérums très clairs stériles ont pu être utilisés; mais avec des sérums anciens, on risque d'avoir des floculations non spécifiques.

Chorine et Kœchlin recommandent de conserver le sérum sur le caillot, ce qui stabilise relativement la réaction qui s'atténue lentement et progressivement. Ils en concluent que la mélanofloculation ne serait pas due à des anticorps, comme le croit Henry. Nous avons recherché dans combien de temps s'éteignait la réaction avec du sérum, sur caillot, conservé à la glacière pendant un mois. Contrairement à la déduction de Chorine et Kœchlin, la réaction a, chaque fois, augmenté d'intensité.

Technique de la réaction.

On se sert de tubes de 13 mm. sur 75 mm., minutieusement nettoyés et ne contenant pas trace d'acide. Pour lire les résultats microscopiquement, quand on ne dispose pas d'un photomètre, on répartit les réactifs de la façon suivante :

Série en eau distillée :

Tube n° 1 : 1 cc. mélanine A + 0 cc. 2 de sérum;

Tube n° 2 : 0,9 cc. mélanine B + 0 cc. 3 de sérum;

Tube n° 3 : 1 cc. solution formolée en eau distillée + 0 cc. 2 de sérum;

Série en eau salée :

Tube n° 4 : 1 cc. mélanine A′ + 0 cc. 2 de sérum.
Tube n° 5 : 1 cc. solution formolée, eau distillée + 0 cc. 2 de sérum.

Après avoir distribué le sérum, on obture les tubes avec des bouchons en caoutchouc et l'on agite fortement le mélange que l'on porte à l'étuve; après un séjour à l'étuve de 2 h. 45, on laisse reposer 20 minutes à la température du laboratoire. Ce délai écoulé, prendre chaque tube entre le pouce et l'index, le tenir verticalement, le faire rouler autour de son axe longitudinal entre les deux doigts et le retourner délicatement deux fois de suite, sans l'agiter. Ce procédé élimine les sédimentations éventuelles de mélanine, sans cependant influer sur les vraies floculations.

On passe ensuite à l'inspection du tube en le plaçant, de façon inclinée, au niveau des yeux, devant une lampe de 50 bougies, en verre transparent non dépoli; on ne doit pas se servir de loupe.

Si on veut utiliser l'agglutinoscope de Kuhn-Wright (champ obscur), il est recommandable de ne considérer comme positives que les précipitations ressemblant aux flocons de neige. La meilleure façon de procéder est de faire la lecture à l'œil nu. Les tubes à réaction positive présentent une floculation nette, avec des grumeaux, mais les tubes témoins 3 et 5 restent clairs.

Si le tube 3, dans la série de l'eau distillée, présente de la floculation, la réaction dans l'eau distillée n'a aucune valeur et il y a lieu de s'en tenir à la

réaction dans les tubes de la série en eau salée. Si, comme cela arrive très exceptionnellement, le tube témoin n° 5 présente également de la floculation dans la série en eau salée, il faut répéter la réaction avec des doses de sel plus élevées. Il convient aussi de recommencer les réactions douteuses, en prélevant de nouveau du sang; les réactions faibles n'ont aucune valeur pour le diagnostic. Henry a, très rarement, des résultats erronés; au point de vue clinique, il considère la réaction comme spécifique.

Lecture au photomètre. — L'examen des réactions au photomètre permet d'éviter 3 à 4 % d'erreurs que la lecture à l'œil nu peut entraîner. C'est avec le photomètre que Henry a interprété les résultats de ses investigations que nous allons résumer. Il employait pour tous les sérums des tubes de contrôle général à la mélanine; il introduisait dans 3 tubes les doses de mélanine utilisées dans la réaction et il y ajoutait de la solution physiologique de chlorure de sodium à la place du sérum. C'est ainsi qu'il ajoutait, aux 5 tubes décrits plus haut, 3 nouveaux tubes de contrôle général qu'il désignait comme suit :

Tube 1 : 1 cc. mélanine A + 0 cc. 2 sérum physiologique.

Tube 2 : 0 cc. 9 mélanine B + 0 cc. 3 sérum physiologique.

Tube 3 : 1 cc. mélanine A′ + 0 cc. 2 sérum physiologique.

Les 8 tubes restaient pendant deux heures à

l'étuve; ils étaient ensuite laissés un quart d'heure au repos à la température ambiante (15 à 20° centigrades).

Voici comment Henry interprétait les résultats au photomètre : En tenant compte de l'opacité propre des suspensions de mélanine, il obtenait la densité optique D. O. d'une façon un peu arbitraire, mais qui lui avait donné dans la pratique les meilleurs résultats. Après avoir agité les tubes pour les homogénéiser, il notait le chiffre d'opacité des différents tubes. Pour la mélanine en eau distillée, l'un des tubes donnait un chiffre plus fort que l'autre tube; c'est le chiffre le plus fort qui était choisi, soit Rd. Puis Henry notait le chiffre d'opacité Td du tube 3 contenant le sérum et l'eau distillée, et celui du tube témoin général Tg correspondant à la suspension de mélanine qui avait donné le chiffre le plus fort; il établissait ainsi la formule suivante :

$$DO = Rd - \frac{Td + Tg}{2}$$

Henry résolvait la même équation pour la série en eau salée; mais il ne l'appliquait que lorsque la surfloculation des sérums annulait la réaction en eau distillée. Cette surfloculation s'observait très bien macroscopiquement. Au point de vue photométrique. Henry estimait pratiquement qu'il y avait surfloculation lorsque le chiffre donné par le témoin sérum + eau distillée atteignait une opacité propre de 60. Dans ce cas, il s'en reportait à la réaction en eau salée.

L'énonciation des résultats, d'après les chiffres de différence de densité optique, était formulée selon les données suivantes :

De 0 à 47, pas de paludisme;
De 48 à 54, réaction douteuse;
A partir de 55, paludisme.

Pour la ferrofloculation, les mêmes données sont valables; mais à partir de 50, on peut affirmer qu'il y a paludisme.

Dans les travaux récents, Henry a remplacé les trois témoins généraux par un nouveau témoin formé d'un mélange de mélanine et de sérum chauffé à 56°. Il introduit dans chaque série d'épreuves (eau distillée, eau salée) un tube renfermant 1 cc. de mélanine et 0 cc. 2 de sérum palustre, chauffé préalablement pendant une demi-heure, à 55-56° exactement. Il dispose pour cela au bain-marie le tube du sérum, ou des sérums à chauffer et un thermomètre placé dans un tube contenant de l'eau, en vue d'apprécier la température fixée.

Après chauffage, la floculation spécifique disparaît et la malaria floculation est annulée; quant à la surfloculation, elle est peu modifiée. Aussi, pour établir la densité optique, l'auteur retranche-t-il du chiffre le plus fort lu pour le tube mélanine sérum frais, le chiffre lu pour le tube mélanine sérum chauffé.

Le barême suivant a été dressé :

De 0 à 10, réaction négative;
De 10 à 17, réaction douteuse;
A partir de 18, réaction palustre.

En application de cette nouvelle technique, voici le dispositif que nous avons employé pour effectuer la mélanofloculation que nous avons toujours pratiquée simultanément avec la ferrofloculation et, depuis quelque temps, avec les deux méthodes exposées plus loin.

Série en eau distillée :

Tube n° 1 : 1 cc. mélanine A + 0 cc. 2 sérum frais.

Tube n° 2 : 0 cc. 9 mélanine B + 0 cc. 3 sérum frais.

Tube n° 3 : 1 cc. de formol à 1/200 dilué au même taux que la mélanine + 0 cc. 2 sérum frais.

Tube n° 4 : 1 cc. mélanine A + 0 cc. 2 sérum chauffé à 56° pendant demi-heure.

En eau salée :

Tube n° 5 : 1 cc. mélanine A′ + 0 cc. 2 sérum frais.

Tube n° 6 : 1 cc. formol à 1/200 dilué + 0 cc. 2 sérum frais.

Tube n° 7 : 1 cc. mélanine A′ + 0 cc. 2 sérum chauffé pendant demi-heure à 56°.

Les tubes sont obturés avec des bouchons en caoutchouc, agités vivement et portés à 37° à l'étuve, pendant deux heures. Après un quart d'heure de repos à la température du laboratoire, nous avons fait la lecture des résultats au photomètre. Nous avons noté les opacités de tous les tubes et en avons déduit si la réaction était positive ou non par différence d'opacité entre le 4^{e} et le 1er généralement, ou entre le 7^{e} et le 5^{e}.

Interprétation des résultats.

a) Ferro et mélanofloculation nettement positives :

On peut presque sûrement diagnostiquer le paludisme. Les réactions non spécifiques sont exceptionnelles avec une technique rigoureuse.

b) Une des réactions est nette, l'autre légère;

Il s'agit aussi presque toujours de paludisme;

c) Les deux réactions sont légèrement positives :

Il y a probabilité de paludisme. Conclure : réaction légère, douteuse.

d) Une réaction positive, une réaction négative, c'est le cas des réactions dissociées;

Il convient de ne penser au paludisme que si la réaction positive l'est très nettement.

e) Les deux réactions sont négatives;

N'exclure la possibilité de paludisme qu'après avoir répété l'épreuve en dehors de l'accès et avoir utilisé parallèlement les autres tests hématologiques, tels que la recherche de l'hématozoaire, la formule leucocytaire qui est déformée par la moindre inflammation. Avant tout, tenir compte, bien entendu, des données cliniques.

Microréactions.

Pour diminuer le nombre de tubes, Henry a proposé de porter à l'étuve à 37°, pendant deux heures, un tube renfermant 1 cc. d'eau distillée et 0 cc. 2 de

sérum frais. S'il n'y a pas de précipité, l'auteur opère en eau distillée; s'il y en a un, il opère en eau salée.

On peut aussi faire des essais avec demi-dose de réactif et demi-dose de sérum; on utilise alors des tubes de 8 mm. de diamètre, afin que la réaction soit plus lisible. Quand on a très peu de sérum, on exécute la réaction au moins avec 2 tubes : l'un contenant la dose forte d'antigène, l'autre constituant le témoin. Il est superflu d'indiquer que l'on ne doit pratiquer ces micro-méthodes que lorsqu'on y est matériellement obligé.

Technique nouvelle de Trensz.

(Archives Institut Pasteur d'Algérie, 1933.)

L'auteur débarrasse la solution de mélanine des protéines oculaires qui peuvent avoir une influence sur la réaction. Il dissout la mélanine dans une base forte de soude ou de potasse; puis il la précipite en milieu acide, ensuite, il la purifie en la soumettant alternativement à des dissolutions par la soude et à des précipitations par l'acide chlorhydrique à une température de 40°. La solubilité de la mélanine augmente à chaque nouvelle dissolution et, dès après la deuxième, le pigment est devenu entièrement soluble dans l'eau distillée.

Cette suspension purifiée présente la même activité que celle préparée par Henry; elle permet une lecture plus facile au photomètre de Vernes et elle se conserve rigoureusement à la glacière. Comme l'indice sérologique, chez les paludéens en traitement,

suit de très près l'évolution de la maladie, on dispose ainsi d'un test très sensible qui marque l'amélioration ou l'aggravation avant que les signes cliniques ne les rendent manifestes.

Préparation du réactif.

Voici, dans leur ordre, les opérations à effectuer : Broyer les membranes choroïdes sur un tamis métallique fin, ajouter de petites quantités d'eau distillée, filtrer cette suspension sur une couche de tarlatane, doublée d'une mince couche de coton hydrophile; centrifuger. Reprendre le culot par une solution de NaoH N/10 et placer à l'étuve à 40°, pendant trois jours.

Pour obtenir une bonne suspension, il faut environ un litre de NaoH N/10, pour une quantité de pigment correspondant à dix yeux de bœuf. Il faut agiter tous les jours, le quatrième jour, ajouter Hcl, jusqu'à précipitation, centrifuger ensuite. Reprendre le culot par NaoH N/10, laisser deux jours à 40°, puis reprécipiter par la quantité minima de Hcl et centrifuger. Reprendre de nouveau le culot avec la quantité minima d'eau distillée, afin d'obtenir une solution mère; ajouter NaoH N jusqu'à neutralité au papier tournesol Gallois et laisser au contact, quelques heures, pour avoir une complète dissolution. Centrifuger dans le but d'éliminer les particules de membranes qui auraient pu être entraînées; diluer la solution mère au 1/10 avec le rhéomètre. Il faut arriver à obtenir une opacité propre de 73 au pho-

tomètre, muni de l'écran vert simple n° 74, ou une opacité de 23 avec l'écran ordinaire.

Cette solution d'opacité faible évite les résultats erronés dus parfois à une solution de sensibilité trop élevée.

Pratique de la réaction.

Au moment de l'emploi, il faut diluer la solution de mélanine au 1/10 dans une solution de NH^4cl à 3 ‰. Deux tubes sont nécessaires : un tube témoin et un tube réaction dans lesquels on met 0 cc. 25 de sérum. En plus, on ajoute dans le tube témoin 1 cc. de NH^4cl à 3 ‰ et dans le tube réaction 1 cc. de solution de mélanine, diluée au 1/10 dans une solution de NH^4cl à 3 ‰. On agite immédiatement et l'on porte à l'étuve, réglée à 37°.

Si la réaction est positive, le trouble va aller en augmentant pendant les trente premières minutes, puis des flocons vont se précipiter. En deux heures, la sédimentation est complète.

Si la réaction est négative, les deux tubes sont transparents; s'il se produit un trouble uniforme, sans dépôt, la réaction est douteuse.

La lecture au photomètre s'obtient par différence entre la densité optique du tube réaction et celle du tube témoin à laquelle on ajoute la densité propre du réactif mélanique.

Avec cette méthode, Trensz a étudié 614 sérums témoins et 378 sérums paludéens. La sensibilité est la même qu'avec la technique de Henry; mais les

réactions positives, en dehors du paludisme, sont plus rares ; cependant Trensz a toujours constaté une réaction positive dans les cas de typhus exanthématique et de Kala Azar.

Nous avons appliqué à la réaction de Henry cette technique de Trensz et nous avons remarqué, en effet, que les réactions trouvées positives, en dehors du paludisme, avec la suspension de mélanine, deviennent négatives grâce à cette méthode. Il convient cependant de signaler que la sensibilité nous a semblé légèrement inférieure à celle de la suspension de mélanine.

Après la communication de Trensz et en application de sa technique, Henry a exposé les résultats obtenus avec la mélanine soluble ainsi qu'avec une mélanine soluble préparée par lui-même, en ajoutant à une partie de culot de centrifugation d'une suspension de mélanine, 30 fois son volume d'antiformine à 20 %. Il a constaté que les résultats fournis par ces mélanines solubles sont inférieurs à ceux qui sont produits par la suspension de mélanine. Henry estime qu'on peut améliorer ces techniques par l'addition de traces de sels de fer.

Technique personnelle.

Comme nous le verrons plus loin en étudiant le mécanisme de la réaction de Henry, de nombreux auteurs croient que cette réaction est due en grande partie, sinon en totalité, à l'action de facteurs non spécifiques, tels que l'eau distillée et le formol.

Nous avons pensé qu'on pouvait réaliser la réaction de Henry en dissolvant dans le sérum à examiner, une certaine quantité de poudre soluble de mélanine; en opérant ainsi, nous estimons avoir éliminé, en totalité, l'action non spécifique due à l'eau distillée.

Voici la technique que nous avons appliquée depuis un mois.

Pour effectuer la lecture au photomètre, nous opérons sur 1 cc. 5 de sérum. Dans un des tubes qui nous sert à réaliser la réaction, nous plaçons 3 cc. de solution vraie de mélanine titrant 23° d'opacité propre, au photomètre, et nous portons ce tube à l'étuve, jusqu'à évaporation totale. Nous obtenons une poudre qui reste adhérente au tube, mais s'en détache facilement. Dans ce même tube, nous introduisons 1 cc. 5 de sérum frais qui, après une légère agitation, dissout la poudre de mélanine; nous lisons aussitôt l'opacité au photomètre et nous reportons le tube à l'étuve à 37°, pendant une heure et demie. Après avoir laissé reposer un quart d'heure, à la température du laboratoire, nous faisons une deuxième lecture et obtenons ainsi un chiffre d'opacité dont nous retranchons le premier chiffre constaté avant la mise à l'étuve. Avec des sérums négatifs par les autres méthodes, nous avons eu des différences d'opacité allant de 4 à 8; avec des sérums positifs, nous avons obtenu des différences d'opacité de 18 à 30.

Il serait intéressant de préciser la différence à partir de laquelle on pourrait affirmer la positivité;

nous préjugeons qu'elle doit se trouver entre 10 et 15.

RESULTATS OBTENUS

Voici d'abord la statistique de A.-F.-X. Henry, telle qu'il l'a indiquée au deuxième Congrès International du Paludisme, Alger, 1930.

2.050 sérums examinés :

a) 450 sérums de paludéens en activité furent tous positifs dans l'intervalle des accès; c'est vers le septième accès que la floculation apparaît;

b) Sur 750 anciens paludéens :

150, en excellent état, donnèrent tous une réaction négative;

600, présentant des séquelles viscérales, donnèrent un pourcentage de 86 % positifs;

c) Sur 750 atteints d'affections diverses :

150 anciens paludéens, sur lesquels 50 furent positifs. Tous les autres (dont 400 syphilitiques) eurent une réaction négative;

d) 100 sérums normaux furent négatifs.

Néanmoins, Henry rapporte quelques rares cas positifs dans lesquels le malade est atteint d'un processus hémocytoclastique.

C'est ce que nous avons étudié dans la partie expérimentale de notre travail. Cependant, dans les anémies où le taux des globules rouges descendait à 1 million par millimètre cube, et en dehors du palu-

disme, les séroflocculations furent trouvées toujours négatives par Henry qui conclut ainsi :

« En résumé, l'observation clinique, les examens hématologiques, l'étude serrée des commémoratifs, faite en parallèle avec nos réactions, nous ont convaincu que celles-ci sont presque pathognomoniques de l'affection palustre. »

Résultats de Sabatucci.

Cet auteur a étudié la ferrofloculation avec le méthylarsinate de fer et a donné, en décembre 1928, les résultats suivants :

Sur 10 paludéens porteurs de vivax ou de præcox, 6 positifs.

Sur 10 sérums non paludéens, 1 positif.

Résultats de P. Adida (août 1929).

Sur 110 sérums étudiés :

31 avec hématozoaires décelés, ont tous été positifs;

10 sérums de sujets sains;

48 sérums de sujets sains, traités pour affections diverses; dans ces deux cas, tous ont été négatifs.

La réaction de Henry a, en outre, constitué un argument très important pour établir le diagnostic de 21 anciens paludéens,

Résultats obtenus par MM. Le Bourdelles, Liégeois et Chabrelie (février 1930).

Ces auteurs ont examiné 400 sérums avec la ferro et la mélanofloculation :

	MÉLANO-FLOCULATION	FERRO-FLOCULATION
64 paludéens avec plasmodiums circulants.	84 % +	68 % +
31 sujets réinfectés ayant séjourné dans des pays palustres avec splénomégalie.	31 % +	21 % +
50 sujets sans lésion viscérale.	17 % +	14 % +
84 anciens soldats de l'armée de Salonique sans signe clinique.	8 % +	7 % +
54 sujets sains.	4 % +	0 +
118 non paludéens.	19 % +	7 % +

Les défaillances de la méthode sont rares : 3 congestions pleuropulmonaires, 1 cirrhose hypersplénique, 3 syphilis secondaires. La réaction a été négative dans une leucémie aiguë et une leucémie myéloïde, quoique ces deux affections soient des processus hémocytoclastiques. Les auteurs concluent que la réaction de Henry est utile comme méthode de diagnostic, guide thérapeutique et index épidémiologique.

Résultats de A. Pozzi (août 1930).

Sa statistique porte sur 160 cas.

75 % des 20 paludéens avec hématozoaires mis en évidence eurent une réaction positive;

15 paludéens chroniques avec séquelles eurent tous une réaction positive;

80 paludéens en période de récidive due au vivax ou au præcox, présentèrent une floculation dans 95 % des cas pendant l'apyrexie et dans 15 % des cas pendant les accès;

20 sujets sains et 25 atteints d'affections diverses eurent tous une réaction négative, donc 100 %.

Résultats de P. Cartana (mars 1931).

Ils portent sur 141 sujets :

36 paludéens récents en période d'apyrexie, donnèrent 35 réactions positives;

13 réactions furent positives sur 14 paludéens avec hématozoaires et splénomégalie;

Sur 30 anciens paludéens dont l'infestation remontait à moins de trois ans, 20 d'entre eux eurent un sérum floculant.

Résultats de C. Nanni (mai 1931).

Ces résultats, qui portent sur 138 sérums, furent obtenus au laboratoire d'hygiène de l'Ecole d'Application de Santé Militaire. Toujours positives, chez les

sujets ayant des plasmodiums vivax ou præcox dans la circulation périphérique, les deux réactions de Henry se montrent positives dans la proportion de 84,6 % chez d'anciens paludéens, sans parasites dans le sang.

Les épreuves ne sont concluantes chez les P. G. impaludés qu'après quelques accès fébriles. Une rate hypertrophiée, une syphilis concomitante et le traitement par la quinine ne faussent pas les résultats. Nanni conclut que les réactions de Henry sont suffisamment exactes pour seconder, dans l'armée, les recherches diagnostiques chez les personnes suspectes de paludisme et soumises à un examen médico-légal.

Résultats de J. Lavergne et H. Monier (juillet 1931).

119 sujets furent examinés :

10 sur 16 paludéens, avec plasmodium, eurent une sérofloculation positive, ainsi que 22 sur 36 sujets en période non aiguë, chez lesquels le paludisme pouvait être incriminé.

Dans ces deux cas, il y a donc 61 % de sérums positifs. Deux floculations se produisirent pour deux sérums, quoique le paludisme fut peu vraisemblable. Aucune floculation n'apparaît chez 16 paludéens infectés depuis plus de dix ans et guéris, ni chez 49 sûrement non paludéens.

Résultats de V. Chorine (mai 1932).

Son expérimentation a porté sur 147 sérums soumis à la ferro et à la mélanofloculation.

Pas une réaction positive ne fut observée chez 49 anciens soldats ayant eu du paludisme de 1915 à 1917.

Sur 67 coloniaux, anciens paludéens, les deux réactions furent positives 4 fois, dont deux fois avec mise en évidence de plasmodium vivax;

Quant à 10 sujets non paludéens, il n'y eut qu'une fois la réaction positive;

21 P. G. furent examinés et donnèrent les résultats suivants :

Sur 17 dont le traitement était fini, 9 représentèrent les deux floculations; chez l'un d'eux, le sang accusait un plasmodium.

Sur 4, en cours de traitement, 3 mélanofloculations furent positives.

Chorine n'a pas lu les résultats au photomètre et ne croit pas que la séroflocculation puisse, à elle seule, porter le diagnostic du paludisme.

Résultats de A. Corradetti (mai 1932).

L'auteur a pratiqué la ferro et la mélanofloculation sur 145 sérums qui ont donné les résultats ci-après :

	Mélanofloculation
55 paludéens en pleine infection de præcox ou de vivax.....	52 + soit 94 %
25 paludéens chroniques.....	22 + soit 88 %
49 atteints d'affections diverses (sûrement non paludéens)...	3 +
16 sujets sains.....	0 +

	Ferrofloculation
55 paludéens en pleine infection de præcox ou de vivax.....	46 + soit 83 %
25 paludéens chroniques.....	20 + soit 80 %
49 atteints d'affections diverses (sûrement non paludéens)...	3 +
16 sujets sains.....	0 +

A noter que les trois réactions positives, hors du paludisme, l'ont été respectivement pour une leucémie, une anémie de Biermer, une lymphadénie.

L'auteur a remarqué que pendant la période digestive, les floculations s'atténuent et parfois disparaissent; il en est de même chez les paludéens en période aiguë soumis à un traitement quinique intensif; mais jamais chez les chroniques.

Résultats de F. Meersseman et P. Lacour (février 1933).

Leurs travaux se sont étendus sur 166 sérums.

Sur 22 paludéens en activité, avec hématozoaires, 22 réactions positives;

Sur 32 paludéens chroniques il y eut : 22 floculations positives (sur 23 qui avaient des séquelles) et 5 positives sur 9, sans séquelles;

Sur 35 rapatriés, après une atteinte palustre, 2 seulement furent positifs;

Sur 13 sujets sains, 13 réactions négatives, 2 anciens paludéens réinfectés présentèrent 2 séroflocu-lations positives.

40 sujets atteints d'affections diverses, à savoir :

11 syphilitiques,
3 blennorragiques,
4 cirrhoses avec splénomégalie,
2 cancers gastriques,
2 maladies du sommeil

eurent tous des réactions négatives.

Résultats de L. Alcay, E. Cattoir et F.-G. Marill (juin 1933).

Ces auteurs ont pratiqué la mélanofloculation chez les malades porteurs d'hématozoaires.

Sur 48 paludéens en activité, ils exécutèrent 169 réactions à la mélanine. Le premier examen montra 44 réactions positives, soit 91 %; le deuxième 47 (97,9 %) quelques jours après.

Résultats de E. Théobalt (juin 1933).

L'auteur a étudié 100 sérums et a obtenu :

13 réactions positives chez 13 paludéens porteurs d'hématozoaires,

15 réactions positives chez 15 paludéens chroniques avec séquelles,

70 réactions négatives sur 70 paludéens chroniques sans séquelles,

2 cas d'ictère ont donné une réaction positive.

E. Théobalt conclut que la réaction de Henry aide à faire le triage des paludéens et, quand elle est très nette, apporte au contexte clinique un élément de certitude non négligeable pour le diagnostic de l'affection.

Résultats de Farjot (juin 1933).

Farjot a examiné la séroflocculation de Henry sur 100 sérums. Il conclut qu'elle est intéressante à condition de pratiquer concurremment les réactions de Vernes au péréthynol pour la syphilis et à la résorcine pour la tuberculose; il ajoute enfin qu'il faut contrôler les résultats par l'examen de sérums, certainement non paludéens.

Résultats de Servanton (1933).

Ils portent sur 46 sérums, classés comme suit :

4 paludéens en activité, avec hématozoaires,

4 paludéens chroniques, avec séquelles,
Tous présentèrent une réaction positive.

3 paludéens chroniques, sans séquelles, sur 34 (et 1 suspect sur 3) montrèrent une réaction positive,

1 sujet prémuni, vivant dans une région palustre eut une réaction négative.

Résultats de Driguez (1933).

L'auteur rapporte 411 mélanofloculations effectuées sur 150 sérums et donne les résultats ci-après :

Sur 36 paludéens avérés, 97,2 % eurent une réaction positive; les 11 sérums de sujets paludéens d'inoculation floculèrent tous, donc 100 %;

Sur 44 sérums d'affections diverses, avec antécédents palustres, 30 furent positifs, soit 61,8 %;

Sur 44 autres sérums d'affections diverses, sans antécédents palustres, Driguez a eu 15 cas positifs forts, 4 légèrement positifs et 22 négatifs; ce qui donne une proportion de 63,4 % de sérums négatifs.

L'auteur conclut que 90 à 100 % des paludéens en activité et 60 à 80 % des paludéens chroniques ont des réactions positives. Les anciens paludéens réinfectés sont assez souvent positifs; les anciens paludéens non réinfectés sont généralement négatifs. Enfin, les sujets sains sont toujours négatifs.

Résultats de V. Chorine et de Mlle Rodieux (1934).

Ces auteurs ont pratiqué 161 mélanofloculations et ont fait les constatations suivantes :

Sur 87 anciens paludéens rentrés en France depuis plus de deux ans, il y eut 3 sérums positifs et 2 douteux.

Sur 74 coloniaux récents, le classement fut établi comme ci-après :

21 avaient des hématozoaires; ils présentèrent 17 réactions positives;

53 sans hématozoaires ne donnèrent que 9 réactions positives.

Résultats de Vialatte et Remontet.

Les réactions trouvées positives par ces deux auteurs se produisirent ainsi :

8 cas sur 11, de paludéens chroniques avec séquelles;

3 cas sur 48, de sérums sains (4 douteux);

67 % des prémunis dont 22 % négatifs, 8 % des résultats furent douteux, 3 % nuls.

Résultats de P.-R. Lacour.

Ses examens ont porté sur 381 sérums; 28 paludéens en évolution, avec hématozoaires, ont donné 28 réactions positives;

Sur 46 anciens paludéens, qui n'avaient pas eu d'accès depuis 6 mois à 1 an :

31 ayant des lésions viscérales, ont fourni 30 résultats positifs;

15 sans lésions viscérales, n'en ont donné que 10.

Sur 62 sujets impaludés en Orient et rapatriés, sans lésion viscérale, il y eut :

55 réactions négatives;

3 réactions négatives dissociées;

4 réactions positives.

D'autre part, 4 anciens paludéens, réinfectés plusieurs fois, avec lésions viscérales, furent tous positifs.

68 sérums de sujets sains furent tous négatifs;

50 sérums de sujets atteints d'affections pulmonaires diverses donnèrent 1 résultat douteux et 49 franchement négatifs.

Sur 38 syphilitiques, il n'y eut qu'une seule réaction positive.

16 sérums de blennorragiens furent tous négatifs, ainsi que 10 sérums d'ictériques;

9 sérums de malades atteints de cirrhoses hypertrophiques ou de douleurs vésiculaires, 2 cancers gastriques, 34 affections diverses — dont la maladie d'Addison — 2 maladies du sommeil, 9 cobayes infectés de protozoose (trypanosome du debbab) furent tous également négatifs;

3 sérums provenant de sujets atteints d'ictères hémolytiques donnèrent 3 réactions positives. Donc, en présence d'ictères hémolytiques, une mélano-floculation positive ne peut faire porter un diagnostic de paludisme.

RESULTATS DANS L'INFECTION PALUSTRE PROVOQUEE

Il s'agit toujours de l'étude de la réaction chez les paralytiques généraux soumis à la malariathérapie. La réaction, pratiquée avant l'inoculation, fut toujours négative; après l'impaludation, elle se déve-

loppe régulièremnet et augmente d'intensité avec la progression de l'infection.

Chorine trouve la mélanofloculation positive, le plus souvent avant le premier accès qui se produit de 3 à 4 jours après l'impaludation, avec un maximum vers le sixième ou le septième accès; la surfloculation dans l'eau distillée apparaît vers le quatrième ou cinquième accès. Après traitement, la mélanofloculation reste identique pendant 10 jours; elle se négative peu à peu dans le délai de 30 à 50 jours, après le début du traitement. Quant à la ferrofloculation, elle ne se manifeste qu'après le quatrième accès.

Lacour ne vit apparaître la floculation que vers les cinquième, sixième ou septième accès; la négativation de la réaction se produisit dans deux cas, 33 et 37 jours après l'arrêt de la fièvre, sous l'action de la quinine et, dans deux autres cas, 22 et 24 jours après le début d'un traitement au stovarsol.

Le Bourdellès et A. Fribourg-Blanc, constatent, chez 9 malades, que les accès fébriles précèdent l'apparition de la floculation qui survient entre le deuxième et le dixième accès.

6 malades impaludés depuis plus de huit mois et traités régulièrement, ont tous une mélanofloculation négative;

2 malades inoculés respectivement 5 et 10 mois plus tôt, donnent une réaction faiblement positive qui s'est négativée au bout d'un mois.

Koch et Wohwinkel voient, sur 21 cas de paludisme d'inoculation, la réaction positive au septième

accès et constatent qu'elle se négative de 8 à 10 jours après l'arrêt de la fièvre, par le traitement quinique.

Alcay, Cattoir et Marill exécutèrent 112 réactions sur le sérum de 14 impaludés.

La floculation apparut à un degré de plus en plus marqué, à mesure qu'évolua le paludisme expérimental; puis elle diminua d'intensité et disparut finalement sous l'effet de la thérapeutique. Dans les inoculations intraveineuses, la floculation fut positive au bout de 13 à 51 jours; deux fois après le premier accès et de 1 à 37 jours après l'apparition des premiers hématozoaires.

Par voie sous-cutanée, elle apparut du 10e au 60e jour, une seule fois avant le premier accès, et de 6 à 35 jours avant l'apparition des hématozoaires. En conséquence, il n'y a pas de grande différence, quel que soit le mode d'impaludation, dans les délais d'apparition de la réaction, si ce n'est qu'elle peut, dans quelques cas de la voie sous-cutanée, être positive avant l'apparition des hématozoaires dans le sang. La floculation disparaît du 4e au 116e jour après le début du traitement.

Il semble qu'il existe un rapport étroit entre l'importance de la thérapeutique et le degré de la floculation, puisque des doses suffisantes de quinine donnent une réaction de Henry définitivement négative. La mélanofloculation permet donc de contrôler la guérison.

Résultats personnels.

Pour faciliter l'interprétation des résultats ci-après, nous signalons que les chiffres entre parenthèses expriment la différence de densité optique entre le tube réaction le plus fort et son témoin; nous rappelons qu'il faut un chiffre minimum de 18 pour avoir une réaction positive.

Nous avons effectué cinq examens sérologiques sur le sérum de trois Marocains ayant eu des accès palustres, mais n'en présentant plus actuellement. Ces trois indigènes sont traités à l'Hôpital militaire pour une syphilis.

OBSERVATION I

Sergent-chef M...
Examens des 29 octobre et 8 décembre 1934.
Mélano et ferrofloculation négatives.

OBSERVATION II

M. (B.-S.). Examen du 29 octobre 1934 : mélanofloculation négative, ferrofloculation positive (33).

OBSERVATION III

B. M... Examens des 29 octobre et 8 décembre 1934, mélano et ferrofloculations négatives.

C'est à l'Hôtel-Dieu que nous avons pris les observations suivantes :

OBSERVATION IV

D. B..., 37 ans, a séjourné dix-huit mois à Beyrouth, de 1919 à 1920. Depuis, il a présenté des crises de paludisme tous les deux ou trois mois. Il est en traitement à l'Hôpital pour un ictère catarrhal infectieux bénin. Son taux de cholestérolémie est de 1 gr. 94 %. La mélanofloculation est très légèrement positive, la ferrofloculation l'est plus nettement (28).

OBSERVATION V

Marie L..., 52 ans, a présenté, il y a trois mois, des troubles gastriques, suivis d'un ictère avec anémie extrême et splénomégalie. La formule sanguine oriente vers le diagnostic de Kala Azar : diminution des polynucléaires, 21 % ; augmentation des mononucléaires, 29 % et des lymphocytes 39 % ; leucopénie, anisocytose considérable, poïkilocytose et polychromatophilie.

La mélanofloculation est positive (29), ainsi que la ferrofloculation (44). La réaction, suivant la technique de Trensz, est légèrement positive.

OBSERVATION VI

P. R..., atteint de la maladie d'Addison, 48 ans. Les deux réactions sont à la limite d'être positives, surtout la mélanofloculation.

OBSERVATION VII

M. Pel., 32 ans. Il a fait son service au Maroc, en 1924, où il a été atteint de paludisme et de dysenterie amibienne. Traité à l'Hôpital de Fez, il fut guéri à

l'époque de sa libération. Chaque été, il est sujet à quelques accès fébriles, arrêtés par la quinine.

En janvier 1935, il présente une psychose hallucinatoire chronique. La mélano et la ferrofloculation sont négatives, ainsi que les réactions avec la mélanine soluble et la poudre de mélanine.

OBSERVATION VIII

M. Des..., 37 ans, fut atteint, pendant la guerre d'une commotion suivie de manifestations hypocondriaques. Depuis, il est névrosé de guerre. En avril 1920, il a présenté au Maroc de la dysenterie amibienne; en mars 1921, des accès de paludisme très graves l'ont fait rapatrier. Il n'a plus d'accès depuis cette époque. Mélano et ferrofloculations négatives, ainsi que les réactions à la mélanine soluble et à la poudre de mélanine.

OBSERVATION IX

Mélanie T..., 32 ans, a présenté, il y a quatre ans, de l'eczéma sur le front; actuellement, elle est atteinte de névralgie sciatique, jambe gauche. Cholestérolémie, 4 gr. 44 %; glycémie, 1 gr. 70 %. Mélano et ferrofloculations négatives.

OBSERVATION X

Marie Ch..., 60 ans. Glycosurie, 75 gr. ‰, soit 130 gr. par 24 heures; cholestérolémie, 4 gr. 32. *Mélano et ferrofloculations négatives.*

Nous avons recherché si la réaction de Henry n'était pas positive dans les naevocarcinomes, caractérisés par la présence dans leur protoplasma d'un pigment noir ou mélanine, qui donne aux tumeurs leur couleur brun foncé si typique.

OBSERVATION XI

Marie L..., 50 ans, présente sur la partie infero-externe de la jambe gauche, un naevocarcinome ayant déterminé une grosse adénopathie inguinale. La cholesterolémie est égale à 1 gr. 28 ‰.

Le 25 janvier 1935, les deux réactions de Henry furent fortement positives (70). Ayant conservé à la glacière le sérum en présence du caillot, nous refîmes les deux réactions le 5 février; elles se montrèrent positives (83) et, le 20 février, la positivité avait augmenté (92). Cette progressivité est sûrement due à une opacité propre du sérum.

OBSERVATION XII

Marie P..., 58 ans, atteinte aussi de naevocarcinome de la région inguinale, a eu une mélanofloculation positive (32) et une ferrofloculation positive également (28).

En appliquant la technique nouvelle de Trensz, la réaction a été négative.

OBSERVATION XIII

Bernard P..., 62 ans, atteint sur le dos de la main gauche d'une tumeur qu'on croyait être une néoformation mélanique a eu les deux réactions négatives. La réaction de B. W. est négative; la cholestérolémie égale 2 gr. 30 ‰.

Dans la suite, la biopsie a montré qu'il s'agissait d'un épithélioma spinocellulaire.

OBSERVATION XIV

D. B..., 37 ans, présente un lymphosarcome au niveau des ganglions du cou. Cholestérolémie 1 gr. 28;

mélano et ferrofloculations négatives, ainsi que les réactions à la mélanine soluble et à la poudre de mélanine.

OBSERVATION XV

Nous avons étudié la réaction de Henry chez un impaludé, R. J..., 26 ans. Après le deuxième accès, la réaction se montra positive; après la troisième, elle le fut plus fortement encore, donnant (62) pour la mélanofloculation et (56) pour la ferrofloculation. Ayant conservé à la glacière du sérum, en présence du caillot, nous avons recherché — comme pour l'observation XI — si la positivité allait augmenter au fur et à mesure du vieillissement du sérum conservé. Deux jours plus tard, le 21 janvier, la positivité donnait des chiffres à peine inférieurs (55) et (53). Le 25 janvier, les chiffres augmentaient et atteignaient respectivement (78) et (60). Le 5 février, les résultats étaient encore plus forts : (87) et (64).

Chez ce malade, la réaction de Wassermann était négative et la cholestérolémie égale à 0 gr. 93. La réaction avec la mélanine soluble fut nettement positive; avec la poudre de mélanine, nous eûmes une différence de (30).

OBSERVATION XVI

Marius B..., 30 ans, présente une anémie grave secondaire à une entérocolite, persistant depuis un mois et demi environ. Au début des accidents, on note une grippe dont le malade s'est mal remis et qui a été suivie d'une diarrhée avec mœléna rouge assez abondant, à plusieurs reprises. En outre, le malade a eu des vomissements très fréquents, accompagnés d'anorexie et d'ictère.

A l'auscultation du cœur, on décèle un souffle systo-

lique de la pointe; la tension artérielle est de 11,5-6; la température est à 38°; la réaction de B. W. est négative; cholestérolémie 0 gr. 88 par litre.

Diagnostic :

Anémie grave secondaire ?
Endocardite maligne ?

Nous avons pratiqué, sur le sérum, les réactions habituelles :

1° Mélanofloculation (Henry), résultats positifs (29).
2° Ferrofloculation (Henry), résultats positifs (34).
3° Mélanine soluble, résultats négatifs.
4° Poudre de mélanine, résultats négatifs.

OBSERVATION XVII

Bart. L..., 33 ans, est parti en décembre 1925 comme engagé sous-officier dans la coloniale. Il a passé un an en Turquie, trois ans en Afrique équatoriale, deux ans en Annam et au Tonkin. Il faut atteint de paludisme en Afrique équatoriale de 1924 à 1927, période où il présenta une dysenterie amibienne qui fut jugulée en quinze jours; il rentra en France en 1931.

Jusqu'en 1935, il ne présenta aucune séquelle, soit de paludisme, soit de dysenterie. Le 9 janvier 1935, une appendicite se déclara; on l'opéra et on constata une perforation. Les suites opératoires furent excellentes; mais à partir de mars, le malade présenta une fièvre hectique, accompagnée d'une lassitude extrême.

Le 16 avril, on pensa à une péritonite bacillaire; mais une laparotomie exploratrice pratiquée ne révéla rien d'anormal; on crut alors à une séquelle de dysenterie et, à partir du 29 avril, le malade reçut deux piqûres par jour de 4 ctgr. d'émétine. Ces piqûres déclanchèrent une diarrhée qui ne s'arrêtera que vers le 14 mai; la cachexie du malade est extrême.

Nous voyons le malade le 3 mai; nous pratiquons la mélanofloculation qui est fortement positive (60), la ferrofloculation (67) et les réactions avec la mélanine soluble et la poudre de mélanine, toutes nettement positives. Le 3 mai, le malade reçoit du Gamétoxyl en piqûres, jusqu'au 8 mai; puis on lui donne du quiniostovarsol. Malgré une amélioration relative pendant une huitaine de jours, ce malade meurt le 5 juin, dans un état de cachexie extrême.

AUTO-OBSERVATION XVIII

Nous avons effectué la première partie de notre service militaire à l'Hôpital militaire de Perpignan, en qualité de pharmacien auxiliaire. Au mois de novembre 1932, nous avons présenté une indisposition avec, d'emblée, une fièvre de 39°,5-40°, céphalées et légères hallucinations. La fièvre tomba en cinq ou six jours. Ce fut catalogué « courbature fébrile ».

Dans les antécédents, on avait trouvé une absorption de moules crues, à la fin du mois d'octobre. Quinze jours après l'accès fébrile, se produisit une hausse de température à 39°,5 qui dura deux jours, sans autres symptômes qu'une assez forte lassitude et une légère céphalée. Ce fut la deuxième et dernière « courbature fébrile ». Nous avons pensé au paludisme, car l'Hôpital militaire de Perpignan renfermait des paludéens hospitalisés et avons émis cette hypothèse au Service de Santé; mais notre suggestion ne fut pas un instant retenue par le médecin chef.

Au mois de juillet 1934, nous avons présenté un accès palustre caractéristique, avec frissons intenses, température, sueurs, mais sans accompagnement d'aucun autre symptôme. Au mois de février 1935, nouvel accès typique. C'est alors que nous avons pratiqué une

sérofloculation qui nous a donné les résultats suivants :

La mélanofloculation (86).
La ferrofloculation (27),

la cholestérolémie était de 2 gr. ‰ et le B. W. négatif.

Nous avons suivi un traitement curatif buccal et, depuis, nous n'avons plus eu d'accès, ce qui ne nous a pas permis de mettre en évidence la présence d'hématozoaires. Cependant, nous avons pratiqué une nouvelle séroréaction et avons obtenu :

1° Une mélanofloculation légèrement positive (32);
2° Une ferrofloculation, douteuse;
3° Une réaction mélanine soluble, négative;
4° Une réaction poudre de mélanine, négative.

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DE LA RÉACTION DE HENRY

I. SENSIBILITE

La sensibilité de la réaction de Henry doit être envisagée par rapport aux résultats recueillis chez les paludéens.

Nous savons qu'au point de vue clinique, l'infection palustre passe par les trois étapes suivantes :

a) Paludisme primaire ou d'invasion, à type de fièvre continue;

b) Paludisme secondaire, caractérisé par les accès fébriles classiques, nettement détachés, et où le parasite est encore facilement décelable dans le sang périphérique;

c) Paludisme chronique, où les accès fébriles tendent à devenir plus rares et plus réguliers; mais où l'on voit se développer, au maximum, la sclérose viscérale et la cachexie. Ces deux dernières complications sont rares chez le sujet rapatrié; par contre,

elles sont très fréquentes chez le sujet soumis à de nouvelles réinfections.

Etudions la sensibilité de la réaction de Henry aux trois stades ci-dessus.

1° Au cours du paludisme de primo invasion, Henry signale 100 % de réactions positives. Le Bourdellès, 84 %; Pozzi, 75 %; Cartana, 97 %; Nanni, 100 %, Corradetti près de 95 %; Méersseman et Lacour, 100 %; Alcay, Cattoir et Marill, 97,9 %; Théobalt, 100 %; Driguez, 97,2 %, etc... Bref, de ces travaux, nous pouvons conclure à une moyenne de 95 à 100 % de réactions positives dans le paludisme primaire.

Le délai d'apparition de la séroflocculation semble encore assez incertain. Henry indique cependant que, dans les premières invasions dues au plasmodium præcox, la réaction apparaît généralement vers la fin du premier septénaire et que la mélanofloculation peut même se montrer positive, dès le cinquième jour de l'infection.

Seulement, il est à noter que la floculation s'atténue considérablement et peut même disparaître lors des accès fébriles, parce que les propriétés précipitantes du sérum sont neutralisées par les pigments qui sont formés, en grande quantité, à ce moment-là. Ainsi, il y aurait saturation de l'antiendogène par l'endogène qui se trouverait libéré à la suite de l'éclatement globulaire.

2° En ce qui concerne le paludisme secondaire, la réaction s'est montrée presque constamment positive.

3° Dans le paludisme chronique, nous pouvons faire les classifications suivantes :

a) Les sujets soumis à des réinfections successives ne présentant ni accès fébriles actuels, ni hématozoaires dans la circulation; mais ayant le plus souvent des lésions viscérales, telles que splénomégalie et parfois hépatomégalie. Chez de tels sujets, le pourcentage de réactions positives demeure très élevé, au voisinage de 90 %;

b) Les anciens paludéens, soumis à une infestation relativement courte, puis rapatriés; ceux-ci n'ont qu'exceptionnellement des réactions positives, ainsi que le démontre le relevé ci-après :

13	fois	sur	288	cas (Le Bourdellès)
0	»	»	16	» (Lavergne et Monier)
0	»	»	12	» (Trensz)
0	»	»	45	» (Théobalt)
8	»	»	81	» (Meersseman et Lacour)

ce qui représente un pourcentage général d'environ 5 %;

c) Les anciens paludéens, soumis à des réinfections nombreuses et prolongées; ils fournissent, en l'absence de lésions viscérales, une proportion de réactions positives de l'ordre de 30 à 50 %.

La plupart des auteurs indiquent une influence du traitement sur la réaction; Henry recommande de ne prélever des sérums que sur des sujets n'ayant pas reçu de quinine depuis au moins vingt-quatre heures. Quant à nous, nous avons cependant obtenu une mélano et une ferrofloculation très fortement positives chez des militaires indigènes qui n'avaient cessé

d'être traités par la quinine. Il est vrai que c'étaient des paludéens secondaires.

Valeur comparée des réactions à la mélanine et au métharfer.

La mélano réaction paraît être, en général, plus sensible que la ferrofloculation; il y a cependant des exceptions. Dans les premières invasions à præcox, la mélanoréaction peut apparaître dès le cinquième jour de fièvre, plusieurs jours avant la ferrofloculation. Au cours de l'évolution palustre, on constate également que les réactions à la mélanine restent plus longtemps positives que celles de la ferrofloculation.

Dans le paludisme en évolution, c'est-à-dire chez les sujets qui présentent des accès fébriles, avec des hématozoaires dans le sang périphérique, Le Bourdellès a obtenu une mélanofloculation positive dans 84 % des cas; tandis que la ferrofloculation ne l'était que dans 68 % des cas. Corradetti a obtenu respectivement 94 % avec la mélano et 83 % avec la ferro.

Quant au paludisme chronique, avec splénomégalie, la mélanofloculation se montre constamment positive, pour Le Bourdellès, 100 %; elle est de 88 % pour Corradetti. La ferrofloculation n'est positive que pour 70 % dans la statistique de Le Bourdellès et pour 80 % dans celle de Corradetti.

Chez les anciens paludéens qui ne présentent plus

de lésion viscérale, mais qui sont susceptibles d'avoir fait des réinfections palustres — indigènes malgaches ou Nord-Africains, anciens coloniaux, — les réactions positives sont plus rares ; mais toujours la mélanofloculation est plus souvent positive (34 %) que la ferrofloculation (23 %).

C'est sans doute pour cette raison que l'on sous-entend toujours la mélanofloculation, lorsqu'on parle actuellement de la réaction de Henry. En effet, la mélanine présente les garanties d'une plus grande spécificité que les sels organiques de fer, vis-à-vis de l'infection paludéenne, et, par surcroît, elle est plus sensible.

Dans notre travail de laboratoire, où nous avons toujours pour tous les sérums examinés, pratiqué simultanément les deux réactions, nous avons remarqué que les résultats obtenus avec les deux méthodes sont parallèles et qu'une plus grande sensibilité est constatée tantôt avec l'une, tantôt avec l'autre.

Sensibilité de la mélanine soluble de Trensz.

Cet auteur a voulu obtenir une mélanine moins sensible que celle de Henry, en vue de diminuer le nombre élevé des résultats aberrants. Il y est bien parvenu et peut-être a-t-il dépassé le but qu'il s'était proposé ; au demeurant, il est facile d'arriver à une juste mesure en opérant sur une solution plus concentrée.

Sensibilité de notre poudre de mélanine soluble.

Bien que très insuffisants pour nous autoriser à tirer une conclusion ferme, les résultats que nous avons obtenus nous permettent de rapprocher la sensibilité de notre poudre de mélanine de celle employée par Trensz dans sa solution.

II. SPECIFICITE

Les réactions positives, chez les non-paludéens, sont exceptionnelles. Deux causes d'erreur doivent tout d'abord être signalées :

La première tient à la surfloculation de certains sérums; cette surfloculation paraît se rencontrer surtout au cours de certaines viscéropathies; elle peut faire conclure à tort à une réaction positive, faute d'une observation rigoureuse des tubes témoins.

Chorine et Prudhomme ont indiqué une méthode permettant de différencier la surfloculation due à la syphilis et celle provenant du paludisme. Ils ont estimé que le déséquilibre colloïdo-cristalloïdien des sérums de paludéens, en présence de l'eau distillée, présentait un optimum lorsqu'on opérait dans les proportions suivantes : 1 partie de sérum, 9 parties

d'eau distillée. Ils font ainsi un mélange, dont ils lisent aussitôt l'opacité au photomètre. Pour tous les sérums le premier chiffre est compris entre 145 et 165. Au bout de trois heures d'étuve et vingt minutes de refroidissement à la température du laboratoire, ils font une deuxième lecture qui donne la nouvelle opacité. La différence entre les deux chiffres d'opacité détermine l'intensité de la floculation.

Les auteurs ont ainsi classé les sérums en trois catégories :

1° Sérums normaux, à floculation faible, ayant donné des différences de —1, en moyenne;

2° Sérums syphilitiques, floculant davantage, donnant des différences de +11, en moyenne;

3° Sérums paludéens, dont l'intensité de floculation est comprise entre 40 et 90.

Donc, si l'on constate un écart de 40 à 45, par exemple, entre les deux lectures, l'on pourra affirmer le paludisme.

Il y a une deuxième cause d'erreur dans l'interprétation des réactions positives. Elle provient du fait que l'on n'est jamais sûr, en pays d'endémie, qu'un sujet d'apparence saine ne soit pas atteint d'une infestation latente et cela implique bon nombre de réactions positives qui semblent paradoxales. C'est ainsi que Bonnet a eu 5 réactions positives sur 5 sujets, présentant des affections diverses, mais atteints de paludisme insoupçonné.

Ces deux causes d'erreur dûment éliminées, on peut affirmer que la réaction de Henry est toujours négative chez les sujets sains. Néanmoins, elle a été

trouvée positive dans des affections autres que le paludisme. Le fait a été signalé, tout d'abord, dans certaines protozooses sanguines : la trypanosomiase caméline et la Leishmaniose canine expérimentale (Trensz). En mars 1933, Chorine obtient, dans la spirochétose des poules, une ferro et une mélanofloculations positives, 5 à 6 jours après l'accès fébrile; chez les poules guéries, la réaction persiste de 30 à 50 jours; il y a même surfloculation. Meersseman et Lacour ont eu des réactions négatives dans la maladie du sommeil et dans la trypanosomiase expérimentale du cobaye.

Les réactions positives, en dehors du paludisme, l'ont été au sujet de certaines affections que l'on retrouve dans les différentes statistiques. La syphilis a donné quelques rares cas positifs, observés par Le Bourdellès, Liégeois, Meersseman et Lacour. Par contre, Henry n'a observé aucune floculation pour 400 sérums syphilitiques; il conclut que la réaction est négative chez les syphilitiques purs, exempts de tout paludisme.

Enfin, quelques processus pathologiques qui s'accompagnent d'une destruction érythrocytaire intense, tels que certaines anémies, leucémies, lymphadénies et l'ictère hémolytique ont donné des séroflocula-tions franchement positives. Néanmoins, comme nous l'avons vu aux résultats de MM. Le Bourdellès, Liégeois et Chabrelie, la réaction a été négative dans une leucémie aiguë et une leucémie myéloïde.

Tzechnowitzer et ses collaborateurs ont expérimenté la réaction de Henry dans le typhus exanthé-

matique; ils ont exécuté des recherches sur 95 sérums, dont 88 ont floculé, soit 92 %. D'après leurs observations, la mélanofloculation devient régulièrement positive du 8e au 10e jour de la maladie et se maintient positive jusqu'à complète convalescence. La mélanofloculation ne peut jouer un grand rôle dans le diagnostic précoce du typhus exanthématique; mais elle peut être utile dans le diagnostic différentiel du typhus exanthématique et du typhus abdominal. Quoi qu'il en soit, cette réaction peut aider à éclairer la question de la pathogénèse du typhus exanthématique.

Au point de vue expérimental, Karout applique la méthode de Henry à 5 sérums de lapins, infectés avec le virus du typhus exanthématique et constate 5 réactions positives. Ainsi que pour la réaction de Weil Félix, la mélanofloculation apparaît du 6e au 11e jour, après le début de l'infection. Le maximum de floculation se trouve entre le 12e et le 25e jour; la réaction reste positive une trentaine de jours; elle disparaît du 30e au 37e jour.

MÉCANISME DE LA RÉACTION

Le principe sur lequel s'est appuyé le promoteur de la réaction réside dans ce fait que le pouvoir précipitant ou floculant de divers sérums qui était envisagé comme un phénomène physico-chimique fortuit, a été considéré par Henry comme un phénomène du domaine de l'immunologie; en d'autres termes, l'auteur estime que sa réaction est bien spécifique au sens biologique du mot, puisqu'elle met en jeu un complexe antigène-anticorps. C'est donc une conception biologique que défend Henry, à propos de la nature de sa réaction.

La floculation spécifique, trop faible en elle-même, serait rendue plus manifeste par l'addition de facteurs non-spécifiques, tels que l'eau distillée et l'eau salée qui joueraient le rôle de sensibilisateurs de réactions. La spécificité de la réaction serait prouvée par le fait que la floculation ne se produit qu'avec des corps qui se rapprochent le plus des pigments palustres et qui ont avec eux des groupements protéiques identiques. En effet, l'albuminate de fer et

le pigment ocre ont une structure très voisine; de même, la mélanine de l'œil de bœuf et la mélanine paludéenne ont des groupes identiques.

Cette conception biologique est assez discutée. Le degré de parenté entre les antigènes de substitution et l'antigène vrai est assez lâche pour que de tels antigènes n'aient qu'une spécificité de groupe; cette spécificité explique les réactions positives aberrantes dans les processus qui comportent une libération massive, dans l'organisme, de pigments d'origine hématique, tels que ictère hémolytique, spirochétose des poules.

Alors est née la théorie physico-chimique qui fait intervenir dans la réaction un déséquilibre humoral. une instabilité particulière des sérums palustres. Cette instabilité, ne se manifeste, quand elle est faible, qu'en présence de certains réactifs comme l'albuminate de fer, la mélanine; mais elle peut apparaître en l'absence de tout antigène, quand elle atteint un degré plus accusé.

Pour R. Gille, la séroflocculation serait liée à une augmentation des euglobulines du sérum, constituant l'émulsoïde négatif; tandis que la combinaison ferrique contenue dans la mélanine et qui se présente dans les conditions de l'épreuve sous forme d'hydrate de fer colloïdal est électro-positive.

Trensz oppose à la conception de Henry les résultats positifs qu'il a obtenus dans la trypanosomiase cameline et dans la leishmaniose canine expérimentales, affections qui ne comportent aucune production de pigments susceptibles de jouer le rôle d'en-

dogènes, En outre, cet auteur a remarqué que la réaction de Henry est peu sensible aux variations du pH entre 5,4 et 9; le pH optimum étant égal à 7, Trensz conclut qu'une concentration moléculaire minima était favorable à la production de la réaction.

Pour Chorine et Gillier, la réaction serait due au déséquilibre dans la proportion de deux facteurs, ci-après examinés :

1° L'accroissement de substances dissoutes dans le sérum et qui ne sont pas solubles dans l'eau distillée formolée. Le taux, constamment augmenté dans les sérums de paludéens de globulines, cholestérine, lécithines, acide urique, interviendrait bien dans la réaction puisque ces deux auteurs ont transformé en sérums positifs des sérums négatifs, par addition de ces différents corps. Le sérum chauffé donne une réaction négative; car ainsi il devient un solvant plus actif pour les globulines et les autres substances précipitables par l'eau distillée. Ces substances, parmi lesquelles la cholestérine, les lipoïdes, ne sont pas modifiées par chauffage.

2° Le deuxième facteur, envisagé par les auteurs, est la concentration moléculaire du sérum, c'est-à-dire la richesse du sérum en sels dissous. La baisse de la concentration saline favorise la floculation, son élévation produit l'effet opposé. Cette élévation apparaît, en particulier, au cours des accès; elle explique la disparition fréquente de la séroflocculation à ce moment. Les sels de potassium, provenant de la destruction globulaire, interviendraient notamment;

ces sels seraient rapidement éliminés par les reins et la réaction redeviendrait positive. Le rôle de la mélanine se réduirait donc à celui d'un indicateur convenablement choisi.

Chorine et Gillier concluent que les anticorps n'entrent pas en jeu dans la réaction; car ils ne sont pas détruits à 56°. D'autre part, les substances actives de la réaction ne sont pas absorbées par le kaolin, tandis que les anticorps le sont généralement.

Ces deux théories, biologique et physico-chimique, si différentes en apparence sont loin de s'opposer. Le Bourdellès et Liégeois adoptent une théorie mixte; ils admettent :

1° Des facteurs non spécifiques, mettant les sérums en état d'instabilité; ces facteurs, eau distillée, formol, sont de simples adjuvants;

2° Des facteurs spécifiques; antigènes homologues, mélanine et sels ferriques.

Le Bourdellès et Velluz ont recherché s'il y aurait un rapport entre le quotient protéique et la réaction de Henry. Chez neuf paludéens en activité, ils ont dosé la protéine par la méthode de Kayser; ils ont trouvé un rapport $\frac{\text{sérine}}{\text{globuline}}$ et un taux de cholestérol normaux, ce qui tendrait à prouver que ces substances n'ont aucune influence sur la mélanofloculation.

Voici leurs résultats :

Protéines totales.	74 à 92,2
Sérine.	46 à 53,3

Globuline	24,04 à 39,5
Cholestérol	1,25 à 1,8
Sérine / Globuline rapport	1,3 à 2,

En définitive, il y a peu de variations.

MM. Peyrot et de Boissezon ont constaté qu'il n'y avait aucun rapport entre le taux de cholestérol dans le sang et le taux de floculation de sérum obtenue par le péréthynol ou la résorcine (méthode de Vernes).

En ce qui nous concerne, nous avons essayé de trouver s'il y avait un rapport entre le taux de la cholestérolémie et l'intensité de la mélanofloculation.

Dans les observations IX et X, où le taux du cholestérol était respectivement de 4 gr. 44 ‰ et 4 gr. 32 ‰, les deux réactions furent négatives. Dans le cas où les réactions furent positives, le taux de la cholestérolémie était compris entre 0 gr. 88 et 2 gr. ‰. Nous concluons donc que le taux de la cholestérolémie et le degré de la surfloculation sont deux éléments indépendants l'un de l'autre.

Trensz et Chorine estiment que la floculation et la surfloculation sont produites par l'eau distillée employée, soit pure, soit comme excipient de la mélanine; ils déclarent qu'on ne peut distinguer ce qui revient à la floculation et ce qui est le fait de la surfloculation. C'est pourquoi nous avons éliminé l'action de l'eau en dissolvant la poudre de mélanine

soluble dans le sérum à examiner. Quoique fort réduits, les résultats que nous avons obtenus semblent encourageants. Il nous a été impossible de lire au photomètre, avant la mise à l'étuve, certains sérums trop opalescents et d'être ainsi en mesure d'exécuter la réaction ; peut-être pourrait-on y arriver en modifiant les surcharges.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chorine et Gillier se sont demandés si la mélanine injectée avait un pouvoir antigénique. Ils ont pratiqué, sur des lapins, huit injections intraveineuses de 1 cc. de mélanine de sarcome de cheval, tous les deux jours; puis deux injections de 2 cc. tous les quatre jours. Ils n'ont obtenu aucune floculation.

En outre, ces deux auteurs ont observé que la mélanine provenant des yeux de bœuf, bien lavée et centrifugée et injectée dans le torrent circulatoire des lapins peut causer des embolies mortelles; tandis qu'elle est bien supportée dans le péritoine à la dose de 2 cc. de la solution mère. Chez les lapins, la réaction négative avant l'expérience, est restée négative, après 5 ou 10 injections. D'où il résulte que la mélanine n'a pas de propriétés antigènes, ou bien que les mélanines des animaux sont identiques. Cependant, l'expérience pratiquée sur des lapins albinos a montré qu'on obtenait une réaction positive; donc le pouvoir antigénique de la mélanine serait réel sur les animaux n'ayant pas de mélanine.

Des lapins ayant reçu deux fois dans le torrent circulatoire 20 cc. d'eau distillée, dans l'intervalle de sept à huit jours, ont eu toujours une réaction négative. On peut conclure, en conséquence, que le pigment ocre, qui donne la réaction du fer et qui fut retrouvé sur les coupes de foie ou de rate, ne donne pas non plus d'anticorps.

Personnellement, nous avons effectué un travail expérimental dans le but d'obtenir des séroflocula-tions positives en produisant des hémolyses chez des lapins. Nous avons pratiqué des séroflocula-tions avant l'intoxication; elles furent toutes négatives.

Lapin A. — Nous lui avons injecté 60 microgrammes de thorium X, dans le tissu cellulaire sous-cutané de la paroi abdominale. Deux jours après, nous l'avons sacrifié et les résultats sérologiques ont été les suivants :

Mélanofloculation très légèrement positive; ferrofloculation négative;

Réaction à la mélanine soluble, négative;

Le taux du cholestérol sanguin était de 0 gr. 50 ‰, taux un peu élevé.

Lapin B. — Nous lui avons injecté dans le torrent circulatoire 2 cc. de solution de bromhydrate de quinine à 5 %.

Deux jours après, la mélano et la ferrofloculations furent très légèrement positives; la réaction à la mélanine soluble fut négative.

Lapin C. — Il fut injecté de 1 cc. de chloroforme dans le torrent circulatoire et ne donna, par suite, aucune réaction positive.

L'application des techniques de Henry dans notre partie expérimentale ne fait ressortir que deux résultats faiblement positifs, tous les autres étant négatifs. Par conséquent, si, d'une manière très générale, nous pouvons considérer les séroflocculations comme vraiment spécifiques, nous devons signaler qu'il est des cas où l'on peut trouver des réactions positives, légères sans doute, en dehors de tout paludisme. Pour se mettre à l'abri de ces réactions aberrantes, il suffirait d'augmenter de quelques unités le tableau-barème et de porter, par exemple, à 25 le chiffre minimum de différence d'opacité pour pouvoir affirmer le paludisme. Il est vrai que Henry nous conseille de ne pas tenir compte des réactions si faiblement positives.

APPLICATIONS PRATIQUES DE LA MALARIA-FLOCULATION

La réaction de Henry semble devoir s'imposer dans la pratique médicale aux points de vue diagnostic et expertise, épidémiologique et enfin thérapeutique.

I

Utilisation du séro-diagnostic Au point de vue diagnostic et expertise.

Le diagnostic du paludisme tient à la fois de la clinique et du laboratoire. La constatation du parasite ou des leucocytes mélanifères ne laisse place à aucun doute. A défaut de ces renseignements, on se contente, pour poser le diagnostic, de constater la pâleur terreuse du malade, son tracé thermographique et son hypersplénie; mais cette manière de procéder expose à des erreurs de diagnostic.

Dans les pays à malaria, on tend à voir le paludisme où il n'est pas; on oublie de songer à la fièvre typhoïde, à la tuberculose, à la fièvre de Malte. En Europe, on risque au contraire de méconnaître le paludisme qui s'y présente souvent sous des formes larvées ou frustes.

Voici, à notre humble avis, quel nous paraît être le rôle du laboratoire dans le diagnostic du paludisme. Nous allons constater quelle place importante occupe la réaction de Henry.

a) *Rechercher l'hématozoaire dans les globules rouges.*

Ceci est la méthode de choix pour le paludisme primaire dans lequel la malaria-floculation n'apparaît qu'à la fin; elle n'est utile qu'après une dizaine de jours d'infectation.

A cette période, l'hématozoaire est facilement mis en évidence. Il n'en est pas cependant toujours ainsi; car on a cité des primo-invasions à plasmodium praecox, où le parasite est souvent difficile à déceler dans la circulation périphérique, alors que la réaction de Henry peut apparaître vers le cinquième jour.

Dans la période secondaire, le parasite ne peut être décelé que sur des frottis préparés au moment d'un accès. La réaction à la mélanine trouve ici un intérêt essentiel en permettant de rattacher au paludisme une poussée fébrile isolée, au cours de laquelle on n'aura pu pratiquer un frottis, ou pour laquelle un frottis est resté négatif. Dans ce dernier cas, on peut provoquer une chasse périphérique des hématozoaires au moyen d'un choc humoral pyrétogène (injection de vaccin, arsénobenzol), ou par contraction de la rate, sous l'effet d'une piqûre d'adrénaline.

En ce qui concerne le paludisme chronique et le

paludisme larvé, la recherche de l'hématozoaire est à peu près toujours négative.

b) *Rechercher les leucocytes mélanifères.*

On constate la présence de grains noirs inclus dans des leucocytes irréguliers polynucléaires ou grands mononucléaires. Ces grains noirs sont des plasmodies palustres phagocytées.

c) *Rechercher dans la formule hémoleucocytaire, la monocytose caractéristique.*

Cette monocytose existe après les accès et dans les intervalles apyrétiques; elle coïncide avec une augmentation du nombre des moyens et des petits lymphocytes et avec une diminution du nombre total des leucocytes.

La constatation de cette monocytose n'offre qu'une valeur d'orientation pour le diagnostic; car la formule leucocytaire est facilement modifiée par le moindre état inflammatoire.

Il est très fréquent que ces deux dernières recherches soient négatives; quand la mise en évidence de l'hématozoaire l'est aussi, il ne reste plus qu'à rechercher les modifications humorales relevant de la présence du parasite et qui sont révélées par les deux réactions de Henry.

d) *Réaction de Henry.*

La ferrofloculation semble avoir été abandonnée au profit de la mélanofloculation qui est plus sensible et plus spécifique. Dans le paludisme primaire, c'est vers la fin du premier septénaire qu'apparaît la floculation; son utilité est manifeste surtout dans les cas de fièvre tierce maligne, où les parasites sont cantonnés dans les viscères et lorsque l'emploi, de médicaments antipaludiques de prémunition a fait disparaître les parasites des voies sanguines, quoique l'infection n'en persiste pas moins.

Nous avons vu que la séro-floculation est constamment positive dans le paludisme secondaire; à cette période, c'est, de beaucoup, la recherche la plus importante.

Il en est de même dans le paludisme chronique, sans accès, mais avec lésions viscérales; en effet, la sérofloculation est positive dans 90 % des cas; elle peut servir à dépister chez d'anciens paludéens l'origine exacte de certaines viscéropathies d'étiologie indéterminée au premier abord.

Enfin, la réaction de Henry est d'une importance incontestable dans le paludisme latent et larvé, où elle permet de poser un diagnostic précoce et d'entraîner ainsi un traitement spécifique, amenant généralement une prompte guérison.

C'est ainsi que M. le professeur Raynaud, d'Alger (mars 1932) cite le cas d'un malade, admis au service des maladies tropicales, avec le diagnostic de pneu-

monie, anémie et splénomégalie. La séroflocculation a été fortement positive. Pendant deux mois et demi, des frottis tri-hebdomadaires, deux ponctions spléniques, une trépanation du tibia, pour examen de la moelle osseuse, n'ont pu apporter la signature de l'affection. Enfin, dix semaines après l'hospitalisation, on a pu déceler, à plusieurs reprises, des plasmodies dans le sang.

Plusieurs cas identiques ont été rapportés.

Il nous paraît intéressant de signaler deux cas de paludisme transmis, par la transfusion du sang, à deux enfants du Service de M. le professeur P. Nobécourt, à Paris.

Deux fillettes, 9 et 11 ans, sont admises à l'Hôpital des Enfants, toutes deux atteintes d'anémie et de splénomégalie. Après plusieurs méthodes de traitement, on les soumet à la splénectomie. Dans un cas, des fragments tissulaires de rate furent injectés à des cobayes, chez lesquels il se développa alors une infection tuberculeuse. Dans l'autre cas, il s'agissait d'une hémogénie.

Etant donné que l'état général des deux enfants était extrêmement mauvais, on leur fit plusieurs transfusions sanguines, provenant de différents donneurs de sang. Chez les deux fillettes, survint, après ce traitement une influence paludéenne à plasmodium malariæ qui est l'agent de la fièvre quarte. On chercha, en vain, si les enfants avaient pu être contaminées auparavant, d'une manière naturelle, et on pensa alors aux donneurs de sang.

Il fut prouvé qu'un seul donneur avait fourni le

sang aux deux fillettes. Cet homme nia énergiquement d'avoir été atteint de paludisme; néanmoins, il reconnut avoir vécu dans des pays à climat chaud : Dakar, Panama et Honolulu; il ajouta que des prises prophylactiques de quinine l'avaient toujours mis à l'abri d'accès fébriles et qu'il était rentré en France depuis plus de six ans.

Le donneur de sang fut cependant sérieusement examiné. Dans les frottis, on ne put pas déceler de plasmodies; mais, la percussion de la rate mit en évidence une splénomégalie. La réaction de Henry, effectuée par le professeur Marchoux, fut fortement positive. Ainsi, les deux enfants furent infectées par un paludéen qui ignorait totalement son affection. C'est grâce à la séroflocculation que le donneur de sang fut reconnu porteur de parasites, quoiqu'il fût à peu près indemne de signes cliniques.

Cette observation montre que si les donneurs de sang doivent être examinés sérologiquement par rapport à la syphilis, il devient indispensable de pratiquer une séroflocculation chez ceux qui ont habité les pays chauds, ou les régions de la France dans lesquelles l'infestation paludéenne sévit à un degré plus ou moins intense.

Dans notre travail, nous signalons l'observation n° XVII où la réaction de Henry nous a permis de diagnostiquer le paludisme alors qu'on ne savait à quoi attribuer la cachexie progressive qui devait emporter le malade. Si nous avions connu le malade plus tôt, et si nous avions pratiqué alors une mélanofloculation, nous aurions sûrement évité une laparo-

tomie exploratrice et nous aurions eu, peut-être, une minime chance de sauver le malade ; nous n'ignorons pas cependant combien ces formes cachectiques sont résistantes aux agents thérapeutiques.

Cette observation XVII rappelle celle que P. Decourt rapporte à la Société de Médecine tropicale (30 octobre 1930). Un malade, atteint de paludisme, aux colonies, pendant son service militaire, est rapatrié en France. A l'occasion d'un traumatisme chirurgical banal, il présente neuf ans plus tard, une récidive contrôlée de paludisme, sans qu'une réinfection ait été possible. Le record de latence de l'hématozoaire (60 ans) a été mentionné par Rist et Boudet en 1907.

Pour notre part, nous devons savoir gré à M. A.-F.-X. Henry de nous avoir permis de diagnostiquer une atteinte personnelle de paludisme et d'en arrêter l'évolution, sans doute définitivement. Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

Enfin, la séroflocculation est susceptible de rendre de grands services dans la sélection de la main-d'œuvre aux pays chauds, car elle permet de dépister tous les porteurs de parasites.

II

Utilisation de la mélanofloculation au point de vue épidémiologique.

Jusqu'ici, on mesurait le degré d'infestation d'une région par le paludisme au moyen de deux indices : index splénique et index plasmodique, indiquant le nombre de sujets parasités par rapport aux sujets sains.

Trensz a appliqué la réaction de Henry à l'épidémiologie. Il a examiné 156 sérums, dont 48 avant la saison du paludisme (avril) et 108 en octobre, pendant la saison du paludisme. Il a remarqué que l'index splénique variait peu d'une saison à l'autre (54 et 50 %) ; que l'index plasmodique passait de 2 % en avril à 10 % au mois d'octobre.

L'indice sérologique de 48 % avant la saison du paludisme descendait à 28,7 % en octobre.

Au point de vue de l'âge, Trensz a constaté que l'indice splénique allait en diminuant au fur et à mesure que le sujet s'avance vers l'âge adulte et la vieillesse, tandis que l'index sérologique augmentait dans d'énormes proportions, passant de :

10 % de 1 à 8 ans, à 25 % de 8 ans à 20 ans et à 62 % de 20 à 80 ans.

Les quelques recherches pratiquées jusqu'ici, dans ce sens, ne sont pas absolument concordantes ; elles n'en démontrent pas moins l'intérêt de la méthode

sérologique dans l'étude de l'épidémiologie pour laquelle la recherche de l'hématozoaire est longue, pénible et très souvent négative, car on a parfois à dépister quelques rares gamètes. Une réaction sérologique simplifiée consisterait à n'utiliser que les tubes 3 et 6 en eau salée pour la mélanofloculation — c'est-à-dire le tube de mélanine et le tube témoin qui pourrait montrer une floculation — et pour la ferrofloculation, on ne se servirait que des tubes 1 et 4, c'est-à-dire les tubes de métharfer en eau distillée et en eau salée.

Le problème de l'extinction spontanée du paludisme chez des sujets n'ayant séjourné que peu de temps en pays impaludé, puis rapatriés, afin d'être soustraits ainsi aux réinfections ultérieures, avait été résolu par Rieux qui s'était attaché à démontrer que le paludisme s'éteint lui-même vers la fin de l'année suivant la dernière impaludation.

L'étude de la malariafloculation prouve généralement la véracité de la thèse de Rieux, puisque chez 90 % des sujets rapatriés rapidement, on n'a pas trouvé de réaction positive. D'ailleurs, on avait constaté l'absence à peu près constante d'hématozoaires chez cette catégorie de paludéens.

Evidemment, il n'est pas question dans ce cas de paludisme chronique ; cependant, ceci n'exclut pas la possibilité de séquelles ayant leur origine dans l'affection palustre, mais dont la nature palustre a disparu.

Il n'en est pas ainsi pour les coloniaux qui sont exposés à des réinfestations multiples pendant un

séjour prolongé dans des pays endémiques et qui, même rapatriés, sont porteurs de germes et gardent longtemps une séroflocculation positive.

III

Utilisation

pour la conduite du traitement antipalustre.

Il est possible d'apprécier les résultats de la thérapeutique antipalustre au moyen de la séroflocculation.

Jusqu'ici, le traitement par la quinine n'était réglé que d'une façon empirique; on n'avait pas de test certain de guérison. Nocht avait préconisé une méthode de traitement consistant à donner des doses de quinine fortes et répétées de manière à stériliser l'organisme en le saturant de quinine.

Naturellement, on peut se rendre compte de la guérison, en pratiquant des séroflocculations jusqu'à ce qu'elles deviennent négatives. Le délai nécessaire à la négativation est fort variable et il sera d'autant plus long que le sujet aura été soumis à des réinfestations massives et répétées. Il est de toute importance de savoir qu'avant de se négativer complètement, la floculation peut présenter des négativations passagères, suivies de reprises. Tant que la floculation demeure positive, tous les auteurs considèrent le sujet comme non guéri et exposé à des rechutes.

On ne peut s'empêcher de comparer la réaction de

Henry à celle de Wassermann ; toutes deux indiquant si l'affection qu'elles permettent de diagnostiquer est ou n'est pas en évolution.

Le contrôle thérapeutique du paludisme paraît devoir être effectué par la méthode photométrique ; ses résultats exprimés en chiffres, indiquant la densité optique, permettraient d'établir une courbe dont le tracé servirait de base à la conduite du traitement.

Généralement, la courbe tend rapidement vers la négativation ; mais elle peut remonter après être descendu et signifier ainsi que le sujet est quino-résistant. Ce contrôle est très utile au médecin qui devra alors changer de thérapeutique. A cet effet, on a proposé d'associer à la quinine divers sels d'arsenic, de fer, des composés iodés ; Henry préconise l'emploi de l'opothérapie, tels que, extraits hépatiques, spléniques, etc., dont l'action consiste à activer l'efficacité des médicaments chimiques, en créant un état humoral tout spécial, s'il n'existe pas déjà.

Nous avons vu toute l'importance de la séro-floculation pour la conduite du traitement antipalustre chez les paralytiques généraux impaludés. La négativation par le traitement a été observée dans des délais variables par les auteurs suivants :

30 à 50 jours (Chorine)
22 à 37 jours (Lacour)
6 et 11 mois dans 2 cas de (Le Bourdellès)
8 à 10 jours (Koch et Wohwinkel)
4 à 116 jours (Alcay, Cattoir et Marill).

PATHOGÉNIE DU PALUDISME ET BIOLOGIE GÉNÉRALE

Le mode d'action de l'hématozoaire a donné lieu à de nombreuses explications pathogéniques auxquelles vient actuellement se joindre celle tirée de la réaction de Henry.

On avait incriminé :

— Une action spoliatrice du parasite, tirée de son caractère endoglobulaire, expliquant ainsi l'anémie du paludéen;

— Une action mécanique du parasite, en raison de l'oblitération des capillaires par les hématies parasitées;

— Une action toxique du parasite, tirée de l'existence hypothétique d'une toxine palustre;

— Une action de choc colloïdo-clasique, selon Abrami et Senevet;

— Une action irritatrice des produits de désintégration cellulaire (Vincent et Rieux). Le Bourdellès estime que cette dernière action permet de comprendre l'évolution clinique du paludisme à la lumière

de la séroflocculation. Il distingue ainsi dans l'affection palustre les phases suivantes :

1. Une phase antigénique; c'est le paludisme primaire, où le rôle des endogènes paraît médiocre; la réaction de Henry est négative; la fièvre est continue;

2. Une phase antigénique-endogénique; c'est le paludisme secondaire où apparaîtrait une « immunité antigénique » vis-à-vis du parasite. La réaction de Henry est constamment positive; la fièvre prend le cycle thermique classique.

3. Une phase endogénique; c'est le paludisme chronique où l'on constate la persistance de l'imprégnation endogénique si le sujet présente des séquelles viscérales. Les accès fébriles sont rares; ils s'éteignent rapidement chez les rapatriés.

Ainsi, la théorie de Abrami et Senevet qui considérait l'accès palustre comme étant provoqué par l'irruption des mérozoïtes, « corps colloïdaux hétérogènes », dans le milieu intérieur, semble devoir être modifiée et être remplacée par la théorie basée sur la mélanofloculation. Ce ne seraient donc plus les mérozoïtes, mais les pigments libérés au même instant qui produiraient le choc palustre.

D'ailleurs, rien ne nous empêche d'envisager l'accès palustre comme étant dû à un complexe antigénique-endogénique comprenant à la fois le parasite et les produits élaborés par lui aux dépens des protéines globulaires, des éléments du système réticulo-endothélial (Lévy-Valensi) et des parenchymes viscéraux, dont les éléments nobles sont détruits.

En définitive, la réaction de Henry repose sur le

principe des endogènes dont l'intérêt mérite d'être dégagé au point de vue de la pathologie générale. En effet, le paludisme ne doit pas être considéré comme la seule infection produisant des endogènes, c'est-à-dire des corps prenant naissance aux dépens de nos propres éléments cellulaires, provoquant l'apparition d'endo-anticorps, dont la nocivité *in vivo* apparaît probable. Il est, sans doute, d'autres endogènes complexes et occultes qui s'élaborent au sein de nos tissus, y deviennent la source de floculations progressives et engendrent des polyscléroses évolutives.

Nous sommes ainsi amené à envisager l'action des agents microbiens, non seulement en fonction de leur virulence propre ou de leur pouvoir toxigène, mais encore en fonction de leur pouvoir endogène. Tous n'ont pas un pouvoir endogène nettement développé. Ce pouvoir, faible ou nul, pour les microbes qui créent des altérations cellulaires éphémères et discrètes, peut se manifester à un degré extrême si l'altération est durable et profonde, si elle s'accompagne d'une élaboration d'un corps hétérogène qui s'accumule dans nos tissus et peut même continuer à se produire après la disparition de l'agent pathogène.

CONCLUSIONS

Arrivé au terme de notre modeste étude, que nous avons essayé de rendre aussi simple que possible, nous formulerons les conclusions suivantes :

1° La réaction de Henry paraît liée à l'existence d'un état humoral spécial qui réside dans l'hyperfloculabilité des sérums de paludéens, en présence des produits de déchets de l'hématie parasitée;

2° Sa technique doit être encore améliorée et simplifiée par l'emploi de réactifs stables, tels que la mélanine soluble, ou peut-être une poudre soluble de mélanine;

3° La spécificité de la réaction est à peu près absolue, les rares cas où la réaction est positive, en dehors du paludisme, sont constitués par le typhus exanthématique, le kala-Azar, l'ictère hémolytique, auxquels nous ajoutons les naevocarcinomes;

4° La réaction de Henry s'impose actuellement au triple point de vue diagnostic, épidémiologique et

traitement du paludisme. Par les services qu'elle a déjà rendus et par ceux qu'elle est appelée à rendre, cette réaction mérite de retenir toute l'attention des médecins. Pratiquée systématiquement par les laboratoires, elle permettrait de traiter efficacement, en les rapportant à leur véritable cause, des viscéropathies d'étiologie douteuse ou même insoupçonnée.

Vu :
Le Président de Thèse,
MAURIN.

Vu :
Le Doyen,
E. BARDIER.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 1er Juillet 1935.
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
J. GHEUSI.

BIBLIOGRAPHIE

ABRAMI (P.) et SENEVET (G.). — Recherches sur la pathogénie du paludisme à plasmodium falciparum. Rôle de l'immunité. La réaction schizontolytique. Mécanisme des rechutes (*Bull. Soc. Méd. Hôpit. Paris,* 16 mars 1917, pp. 518-534).

ADIDA (P.). — La réaction de floculation dans le paludisme (*Gazette des Hôpitaux,* 102e année, n° 63, 7 août 1929, pp. 1137-1140).

ALCAY (L.), CATTOIR (E.) et MARILL (F. G.). — Note relative à la mélanofloculation de Henry au cours du paludisme d'inoculation. (*Soc. de Méd. d'Alger.* Séance du 16 décembre 1932, *in : L'Algérie Médicale,* mars 1932, n° 1933, n° LXIII, p. 153). — La réaction de mélanofloculation de Henry chez les malades porteur d'hématozoaires (*Paris Médical,* 23e année, n° 23, 10 juin 1933, p. 516).

ALTOUNYAN. — Un cas d'auto-hémo-agglutination chez un paludéen. Disparition du phénomène après la splénectomie (*Marseille Médical,* 1925, p. 171).

BABENSKY (A.) et BIVOL (E.). — La réaction de Henry dans le diagnostic du paludisme (*Soc. de biol. de Bucarest,* séance des 18 mai et 1er juin 1932; *in C. R. des Sèances de la Société de biologie,* n° 29, 1933).

Bonalberti (E.). — Contributo allo studio della reazione di Henry nella diagnosi clinica di malaria *Boll. Ist. siero-terap. Milanese* 10 : 711-719, nov. 1931).

Bonnet (A.). — Quelques cas de troubles nerveux d'origine palustre. Utilité diagnostic de la réaction de Henry (*C. R. du II^e Congrès Intern. du paludisme d'Alger,* t. I, 19 mai 1930, pp. 750 à 777).

Brotzu. — Valeur des réactions floculantes dans la diagnose de la malaria (*Soc. Intern. de Microbiol. Boll. d. Sez. ital.,* 1931, t. III, p. 429).

Businco (A.) et Poltz (P.). — Sifilide e Maleria. Valore degli esami biologici (*Policlino Sez. medica,* 1924).

Carnot (P.). — Sur le mécanisme de la disparition des schizontes dans le sang périphérique, au cours des accès de paludisme (*C. R. de la Soc. de biol.,* t. LXXX, 16 juin 1917, p. 575).

Cartana (P.), Castella et Moline. — Contribution à l'étude de la séroflocculation du paludisme (*C. R. du II^e Congrès Intern. du paludisme d'Alger,* t. I, 19-21 mai, 1930, pp. 750-777).

Cartana (P.). — La séroflocculation du paludisme (réaction de Henry) (*Med. de los paises calidos,* t. IV, n° 2, mars 1931, p. 95).

Celli (P.). — Sull'immunita dall-infezione malarica. Nuove ricerche (*Atti della Soc. per gli studi della malaria,* 1901).

Chabrelie (Lucien). — Contribution à l'étude de la séroflocculation du paludisme (réaction de Henry) (*Thèse de Lyon,* 1928, t. III).

Chambers (J. H.). — The complement fixation test and other fildings in (*Malaria Americ. Somm. of tropic. medic.,* t. III, n° 6, nov. 1923, pp. 509-515).

CHORINE (V.). — Réaction de Henry dans le diagnostic du paludisme (*Rivista de Malariologia*, t. XI, fasc. 3, mai-juin 1932, p. 273) ; — Evolution de la réaction de Henry et surfloculance du sérum (*Bull. de la Soc. de Path. Exot.*, 8 février 1933) ; — La séroflocculation de Henry dans la spirochétose des poules (*C. R. Soc. de biol.*, t. CXII, n° 12, 1er avril 1933, p. 1164).

CHORINE (V.) et GILLIER (R.). — Recherche sur le mécanisme de la réaction de Henry (*C. R. Soc. biologie*, t. CXIII, n° 28, p. 1419. Séance du 22 juillet 1933).

— Sur le mécanisme de la réaction de Henry au cours de l'infection paludéenne (*Académie des Sciences*, séance du 23 octobre 1933).

— Le mécanisme de la réaction de Henry (*Annales de l'Institut Pasteur*, n° 2, février 1934, p. 193).

CHORINE (V.) et KOECHLIN (D.). — Influence de la conservation des sérums sur la réaction de Henry (*C. R. Soc. de biol.*, t. CXVI, n° 16, p. 19. Séance du 5 mai 1934).

CHORINE (V.) et PRUDHOMME. — Floculation des sérums dans l'eau distillée (*C. R. Soc. de biol.*, 1934, t. CXV, p. 290).

CHORINE (V.) et RODIEUX (Mlle). — La réaction de Henry et le diagnostic du paludisme (*Presse Médicale*, 1924, t. I, p. 198).

CHORINE (V.). — Floculation du sérum dans l'eau distillée pure ou additionnée de mélanine (*C. R. Soc. biol.*, 1925, t. CXVIII, n° 4, p. 335).

CHRISTOPHERS (S. R.) et BENTLEY (C. R.). — The mecanism of immunity against malaria in communities living under hyperendemic conditions Ind. (*Journ. of Med. ressarch*, t. XII, n° 2, oct. 1924, pp. 273-294).

CLIFFORD et GILL (A.). — Epidemic of fulminant malaria together with a preliminary study of the part played by immunity in malaria (*Indian* Somm. of Med. Ros., t. II, n° 1, juillet 1914).

— Suites éloignées du paludisme (*C. R. du XVII^e Congrès franç. de médec. de Bordeaux*, 27-29 septembre 1923).

DE BLASI (D.). — Sulla deviazione del complemento nella malaria umana (*Ann. d'igiene sper.*, 1907).

— La reazione di Wassermann nei malarici (*Atti della Soc. per gli studi della malaria*, 1919).

DECOURT (Ph.). — Quelques précisions sur la thérapeutique du paludisme (*Paris Médical*, 1^er juin 1929, p. 538).

DEJUST (M.-L.). — Pigments mélaniques et pigments de la peau humaine (*Bull. Soc. de Chimie biol.*, t. IX, décembre 1927, pp. 1164-1182).

DRIGUEZ (G.). — De la mélanofloculation (réaction de Henry), au cours du paludisme (*Thèse d'Alger*, 1933, t. I).

FARJOT. — Résultats de cent séroflocculations de Henry (*Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXVI, n° 3, mars 1933, p. 428, et *Presse Médicale*, 1933, n° 1, p. 781).

GARBIES (J.). — Le pigment malarique (*Thèse de Bordeaux*, 1933-1934, n° 93).

GARIN. — Evolution du paludisme contracté en Orient chez des sujets de retour en France depuis l'armistice (*Lyon Médical*, n° 5, 10 mars 1923, pp. 187-198.

GASBARRINI (A.). — Sulla diagnosi di malaria latente (*Morgagni*, 1914).

GATE et PAPACOSTAS. — Une nouvelle réaction des sérums syphilitiques, la formolgélification. (*C. R. Soc. de biologie*, 20 novembre 1920, p. 1432.

GILLE (R.). — Les conditions physicochimiques de la réaction de Henry (*C. R. Soc. de biologie*, t. CXII, 27 janvier 1933, n° 3, p. 334 (*Société de biologie d'Alger*, séance du 15 décembre 1932).

GIRAUD (Marthe), GIRAUD (G.). et PARÈS (G.). — La crise hémoclamique du mal des irradiations pénétrantes (*Presse Médicale*, 1931, n° 75, 17 septembre, p. 746).

GORDON-THOMSON. — Experiment of the complement fixation in malaria with antigens prepared from cultures of malarial parasites (*Proc. Roy. Soc. of med.*, t. XII, avril-mai 1919, pp. 39-48).

GRIXONI (G.). — L'agglutinatione del sangue malarico (*Gaz. degli Ssped et delle clin.*, 1901).

HELOUIN. — Le diagnostic du paludisme par la mélano et la ferrofloculation de Henry (*La Clinique*, juin 1932 (A), n° 187, pp. 195-197).

HENRY (A. F. X.). — Etude sérologique de l'infection palustre (*Bull. Inst. Pasteur*, 1927, p. 702, et *LI^e Congrès Ass. franç. avancement des sciences*, Constantine, 1927).

— Etudes sérologiques sur le paludisme (*Revue tunisienne des Sc. Méd.*, mai 1927, p. 153).

— Contribution à l'étude sérologique de l'infection palustre (*Algérie Méd.*, septembre 1927, n° 9, p. 557).

— Etude sérologique de l'infection palustre (*Paris Méd.*, 23 juin 1928, t. I, pp. 528 à 588 (*C. R. Soc. biol.*, t. LXXXXIX, séance du 9 juillet 1928, pp. 819 à 821).

— Etude sérologique de l'infection palustre (*La Médecine prat.*, 30 novembre 1928, n° 9, p. 242).

— Nouvelle technique de forrofloculation pour l'étude sérologique du paludisme (*C. R. Soc. biol. Lyon.* Séance 18 février 1929, t. C, pp. 671-674).

— La sérologie de l'infection palustre. Son intérêt clinique (*Lyon Méd.*, t. CXXXXIII, 3 mars 1929, t. I, pp. 256-259).

— Le diagnostic du paludisme par la photométrie de la floculation (*C. R. Soc. biologie*, t. CI, 31 mai 1929, pp. 261-264).

— Les méthodes photométriques de la séroflocculation dans le diagnostic du paludisme (photométrie de la ferroflocculation) (*C. R. Soc. biol.*, t. CI, 31 mai 1929, pp. 259-261).

— Séroflocculation palustre. Conditions d'observation, interprétation et discussion des résultats (*C. R. Société biol.*, t. CI, séance du 20 juillet 1929, pp. 1026-1029).

— La sérologie de l'infection palustre. Son intérêt clinique. (*Paris Médical*, 1929, pp. 626 à 627).

— Séroflocculation palustre. Méthodes photométriques (*Archives de l'Institut prophylactique*, octobre-décembre 1929).

— Séroflocculation palustre (*C. R. du II^e Congrès International du paludisme*, 19 mai 1920, Alger, t. I, pp. 750-777).

— La séroflocculation et l'examen des frottis sanguins dans le diagnostic et le traitement du paludisme (*Paris Médical*, t. I, 31 mai 1930, pp. 496-499).

— Séroflocculation palustre. (Malaria floculation.) (*Arch. ital. di sc. med. colon.*, t. XI, 1^er décembre 1930, pp. 723-743).

HENRY (A.-F.-X.). — Malaria floculation. Les antigènes, l'observation macroscopique des résultats (*C. R. Soc. biol.*, 1931, t. CVII, p. 1520).

— Considérations sur le paludisme chronique. Pathogénie, diagnostic, traitement (*Paris Médical*, 1932, n° 23, juillet).

— Le sérodiagnostic du paludisme (Malaria floculation.) (*La Médecine*, n° 17, décembre 1932),

— Paludisme et réaction de Henry (*Presse Médicale*, 1932, t. I, p. 938).

— Mélanofloculation. Formolage des tubes témoins, alcalinisation des liquides de dilution (*C. R. Soc. biol.*, t. CXII, 1933, n° 8, p. 765, présenté par Ch. Dopter).

— Malaria floculation (réaction de Henry) (*Revue critique de path. thérap.*, n° 4, janvier-février 1934).

— A propos de la sérofloculation dans le diagnostic du paludisme. Sa technique et son application dans la pratique (*Revue des progrès thérapeut.*, n°s 4 et 5, avril et mai 1934, paru également en langue allemande *in :* (*Arch. für Schimsund* Tropenhygiene, mars 1934).

— A propos de la densité optique dans les techniques sérologiques photométriques et en particulier dans la malaria floculation (*C. R. Société biol.*, t. CXV, n° 14, séance du 21 avril 1934, p. 1606).

— Réactifs mélaniques et mélano-ferriques solubles et en suspension (*C. R. Société biologique*, 1935, t. CXVIII, n° 6, p. 501).

— Mélanofloculation en dehors du paludisme et instabilité sérique (*C. R. Soc. biol.*, t. CXVIII 1935, n° 14, p. 1443).

Horowitz-Wlassowa (L.). — Experimentelle Beiträge zur Frage der Malaria Immunität spezifische komplementabklengunksreaktion bei malaria (*Zeitschrif Immunitäts forsch u. exper. therapie*, 1924).

Huguenin. — Le paludisme d'inoculation. Etude clinique et expérimentale (*Thèse d'Alger*, 1933-1934, n° 34).

Kappus (A.). — Ueber die Henry'Sche Malariareaktion (*Arch. für Schims u. Tropenhygiene* 36, Heft 11, nov. 1932, pp. 576-586).

KAROUT (T.), MOLDVASKAYA, KRITCHAEVSKAYA (V.). — Réaction de mélanofloculation de Henry et typhus exanthématique expérimental du lapin (*C. R. Soc. biol.*, t. CXIII, n° 26, 1933, p. 1094).

KINGSBURY (A. N.). — Some investigations of malarial fever. Complement fixation reaction (*Tr. Roy. Soc. trop. med. a Hyg.*, janvier 1927, p. 359).

KOCH (F.). et VOHWINCKEL (K. H.). — Sur la réaction de floculation, d'après Henry, dans la malariathérapie. Contribution au danger des récidives (*Deutsche medizinische Wochenschrift*, n° 48, 1er décembre 1933, p. 1792).

LACOUR (P.). — Recherches sur la malariafloculation de Henry (sa sensibilité, en spécificité, sa valeur pratique) (*Thèse de Lyon*, 1933-34, n° 4).

LAVERGNE (J.) et MONIER (H.). — Utilisation de la sérofloculation de Henry dans le diagnostic et le traitement du paludisme (*Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XXIV, n° 7, juillet 1931, pp. 539-544).

LE BOURDELLES (B.) et LIÉGEOIS (R.). — Contribution à l'étude de la réaction de Henry : ferro et mélanofloculation. Sa valeur dans le diagnostic de l'infection palustre (*C. R. Société biologique*, t. LXXXXVIII, 18 mai 1928, pp. 1342-1344).

— La réaction de Henry; son intérêt clinique et épidémiologique (*Journal de Méd. de Paris*, n° 5, 31 janvier 1929, p. 96).

LE BOURDELLES (B.) et LIÉGEOIS (R.). — Sur la mélanofloculation. Influence du temps de réaction. Les aspects du floculat en eau distillée et eau salée, leur signification (*C. R. Soc. biol.*, t. CI, pp. 466-468, et 1148-1149).

— La sérofloculation du paludisme (réaction de Henry). Son intérêt clinique (*Bull. et Mém. Soc. des Hôpitaux de Paris*, t. 53, 18 octobre 1929, pp. 1196-1202).

Le Bourdelles (B.). — La séroflocculation du paludisme (*Soc. de méd. milit. franç.*, n° 2, février 1930, p. 27).

Le Bourdelles (B.), Liégeois (R.) et Chabrelie (L.). — La séroflocculation du paludisme (réaction de Henry) (*Arch. de Méd. et de pharm.*, t. XCII, n° 2, février 1930, pp. 179-206).

Le Bourdelles (B.) et Liégeois (R.). — La séroflocculation du paludisme (réaction de Henry). Ses résultats cliniques (*C. R. du II^e Congrès Intern. du paludisme*, Alger, 19-21 mai 1930, t. I, pp. 750-777.

Le Bourdelles (B.) — A propos de la séroflocculation du paludisme (*Arch. de Méd. et Pharm. milit.*, t. LXXXXIII, juillet 1930, pp. 121-124).

— La séroflocculation du paludisme (réaction de Henry). Son intérêt clinique et épidémiologique (*Rev. Méd. Franç.*, t. II, octobre 1930, pp. 721-730).

Le Bourdelles et Velluz (L.). — Malariafloculation de Henry et protémies du sérum palustre (*C. R. Soc. biol.*, t. CVIII, 23 oct. 1931, pp. 402-403).

Le Bourdelles (B.). — Malariafloculation et paludisme chronique (*Bull. et Mém. de la Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 3^e série, n° 19, 12 juin 1933).

Le Bourdelles (B.) et Fribourg-Blanc (A.). — Malariafloculation et malariathérapie (*Bulletin Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 49^e année, n° 24, 7 juillet 1933, p. 1013).

Le Chuiton (F.). — Recherches sur la réaction d'opacification de Meinicke (*Presse Méd.*, 26 novembre 1930, p. 1608).

Leroy (R.), Chorine et Medakowitch (G.). — Evolution de la réaction de Henry lors de l'infection palustre expérimentale (*L'Encéphale*, mai 1933).

Liria-Borderas (A.). — Contribución al estudio de la reacción de Henry en el paludismo experimental (*Clin. y lab.*, t. XIX, mars 1932, pp. 181-189).

Livierato (S.), Vagliano (M.) et Constantakato (G.). — Utilisation d'un nouvel antigène pour le diagnostic de la malaria par la méthode de floculation (*C. R. Soc. biol.*, séance du 7 mai 1932, et *La Grèce Médicale*, t. XXXI, novembre-décembre 1932).

Meersseman (F.) et Lacour (P.-R.). — Recherches sur la réaction de la malaria floculation de Henry (*C. R. Soc. biol.*, t. CXII, 1933, n° 9, p. 908. *C. R. de la Soc. biol. Lyon*, séance 20 février 1933).

— La malaria floculation de Henry. Son intérêt théorique et pratique (*Soc. méd. des Hôp. de Lyon*, dans le *Lyon méd.* du 27 mai 1934, p. 632).

— La séroflocculation du paludisme (réaction de Henry) ; sa valeur, sa technique, son mécanisme (*Presse méd.*, n° 49, 20 juin 1934, p. 995-998).

Nanni (C.). — Ricerche sulla reazione di Henry nella malaria (ferro e melanofloculatione) (*Giornale di medicina militare*, t. LXXX, 5 mai 1931, pp. 381-398).

Peyrot (J.) et de Boissezon (P.). — Cholestérolémie et infection syphilitique (*Arch. Inst. prophylactique*, t. 4, n° 3, troisième trimestre 1932.

— Cholestérolémie et infection tuberculeuse (*Arch. Inst. prophylactique*, t. 6, n° 1, premier trimestre 1934.

Picado (C.). — Nouvelle réaction sérologique pour le paludisme (*C. R. Soc. Biol.*, 1929, t. I, p. 479. Séance du 16 février 1929).

Pikol (J.-N.). — Henry's mélano and ferrofloculation test in malaria (*Trop. med. i. vet.*, 1931, t. 9, pp. 371-372 et 429-432.

Pozzi Arnaldo. — La reazione di Henry nella malaria (*Il Policlino, sezione medica*, 37e année, n° 8, 1er août 1930, p. 361.

Raybaud (A.). — Le sérodiagnostic du paludisme. Les réactions de Henry (*Marseille médical*, 1930, n° 16, 5 juin, p. 725).

Rocchi (F.). — Ricerche sul pigmento malarico con specialo riguardo alle reazione di Henry (*Arch. ital. di anat. e istol. pat.*, t. I, juillet-août 1930, pp. 613-627).

— Intradermereazione e anticorpi verso il pigmento malarico (*Riv. di malariol.*, t. X, march-april 1931, pp. 161-182).

Rodillon. — Le sérodiagnostic du paludisme (réaction de Henry) (*Bull. des biologistes pharmaciens*, 1929, n° 5, p. 207).

Row. — Réactions des précipitines dans les sérums paludéens (*Trans. roy. Soc. trop. med. a. hyg.*, avril 1931, anal. dans *The journ. of trop. med. and hyg.*, vol. XXXIV, n° 23, 1er déc. 1931, p. 399).

Sabatucci (M.). — La reazioni di floculazione nell'infezione malarica (*Riv. di malariologia*, t. VII, n° 6, déc. 1928, p. 853).

Savtchenko (J.-G.) et Boronoff (J.-M.). — De la spécificité de la réaction de fixation dans le paludisme (*Bull. Inst. Pasteur*, 1927, t. XXV, pp. 199-701 et 1929, t. XXVII, pp. 439-954).

Servanton. — La melanofloculation de Henry (malaria réaction) (*Thèse Bordeaux*, 1933-1934, n° 95).

Scabra (F.). — Sobre asero floculacao malarica : reacçao de Henry (*Rev. de med. Sao Paulo*, t. XV, nov. 1931, pp. 156-161).

Stephens (J.-W.) et Christophers (S.-R.). — The agglutination of sporozoïtes (*Report on mal. Committee,* 1900).

Taliaferro (W.-H.), Taliaferro (L.-G.) et Fischer (A.-B.). — A pricipitin test in malaria. United fruit company. Mer Dept. fifteenth (*Ann. Rpt,* 1926 et *Journal of prev. med.,* 1927).

Theobalt (E.). — La malaria floculation de Henry. Etudes de 100 cas cliniques (*Bull. Soc. méd. Hóp. de Paris,* séance du 2 juin 1933, 49e année, n° 19, 12 juin 1933, p. 753).

Trensz (F.). — Essai d'application de la réaction de Henry à l'étude épidémiologique du paludisme (*Bull. Soc. Path. exot.,* t. XXV, pp. 310-314, 1932, et pp. 314-317).

— Le rôle du pH des réactifs dans la sérofloculation du paludisme (réaction de Henry) (*Bull. Soc. Path. exot.,* 9 mars 1932, t. XXV, pp. 221-234).

— Recherches sur la sérofloculation palustre (réaction de Henry) (*Arch. Inst. Pasteur, Alger,* déc. 1932, t. X, n° 4, p. 443).

— La sérofloculation palustre de Henry dans la trypanosomiase cameline et la leishmaniose canine expérimentales (*Bull. Soc. Path. exot.,* t. XXV, n° 5, p. 230, 1932).

Trensz (F.) et Mlle Jardon (M.). — Les protides du sérum et la réaction de Henry dans la trypanosomiase expérimentale (*Bull. Soc. Path. exot.,* t. XXVI, n° 3, mars 1933, p. 442).

Trensz (F.). — Technique de la sérofloculation palustre par la mélanine choroïdienne purifiée, rendue soluble dans l'eau distillée (*Arch. Inst. Pasteur d'Algérie,* 1935, t. XIII, n° 1, p. 11).

— Sur les caractères distinctifs entre la floculation et la surfloculation du sérum de paludéens (*C. R. Soc. Biol.,* 1935, t. CXVIII, n° 1, p. 11).

TZECHNOWITZER (M. M.), GORCHOWA (E. L.), MOLDVASKAYA (W.-D.), KRITSCHEWSKAYA. — Henry mélanoflocculation réaction as a new method of serodiagnosis in malaria (*Trop. med. i. vet.*, 1931, n° 9, pp. 372-373).

— Henry mélanoflocculation réaction as a new method of serodiagnosis in malaria (*Trop. med. i. vet.*, 1931, n° 9, pp. 372-373).

— Die melanoflokulation bei malaria (*Zentral Blatt* für *Bakteriologie*, abt. 1, t. CXXVI, déc. 1932, pp. 414-427).

TZECHNOWITZER (M.-M.), GORCHOWA (E.-L.), MOLDVASKAYA (W.-D.), KRITSCHEWSKAYA et FRIDMAN. — Réaction de mélanofloculation de Henry et typhus exanthémique (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. CXIII, p. 1093, séance du 8 juillet).

VIALATTE (Ch.) et REMONTET. — Paludisme viscéral. Prémunition et réaction de floculation de Henry. (*Bull. Soc. Path. exot.*, 1930, pp. 590-594).